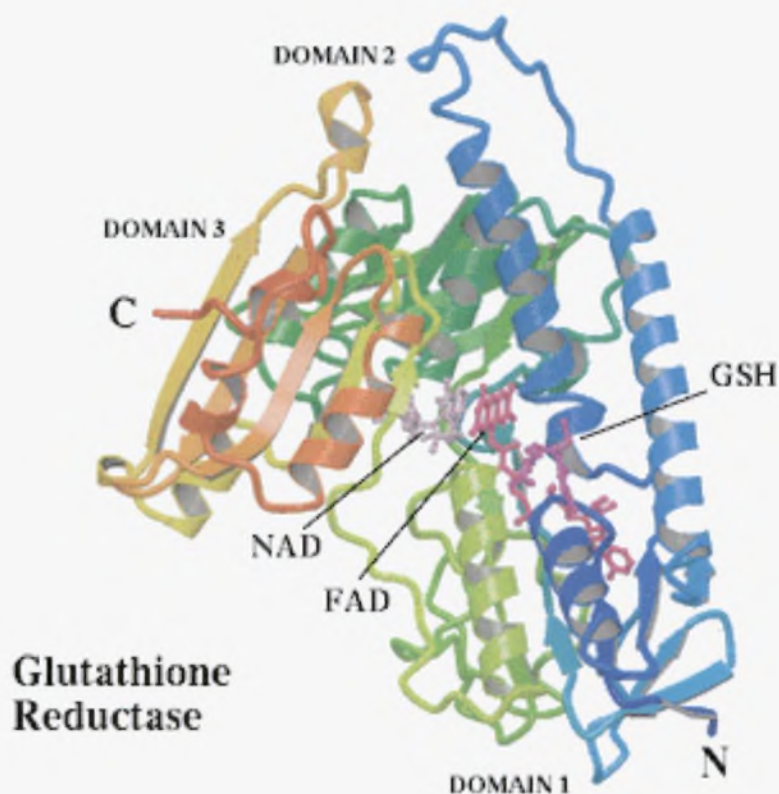


Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας  
Σχολή Επιστημών Υγείας  
Τμήμα Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας

Παπανάγνου Παναγιώτα

## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

" Το οξειδωτικό stress στο Σύνδρομο της Άπνοιας κατά τον Ύπνο "



-Υπό την αιγίδα του Διευθυντή της Πνευμονολογικής Πτέρυγας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, Καθηγητή κ. Κωνσταντίνου Γουργουλιάνη



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ**  
**ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 4423/1  
Ημερ. Εισ.: 08-03-2006  
Δωρεά: Π.Θ.  
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ  
2005  
ΠΑΠ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

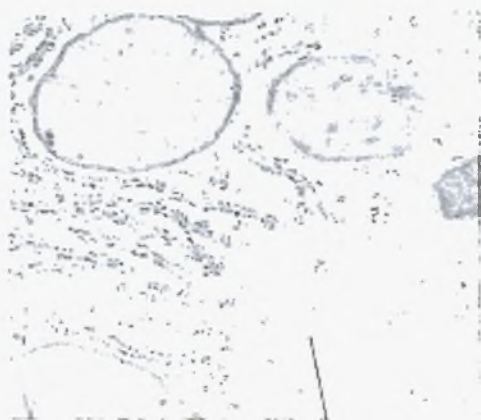


004000087834

Στην παρούσα εργασία ,θα γίνει αρχικά μία αναφορά στους μηχανισμούς με τους οποίους οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν κυτταρικές βλάβες κι έπειτα περιγραφή του Συνδρόμου Άπνοιας κατά τον Ύπνο με παρουσίαση των μεθόδων και των αποτελεσμάτων της κλινικής μελέτης που πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Λάρισας .

### ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Ως ελεύθερη ρίζα ,ορίζουμε ένα μόριο που διαθέτει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σε μία από τις εξωτερικές του στιβάδες. Οι ελεύθερες ρίζες που προκαλούν "τραυματισμό" του κυττάρου ,δημιουργούνται από την ακτινοβολία (UV υπεριώδεις ή X ακτίνες) ,το μεταβολισμό διαφόρων ξενοβιοτικών ουσιών (φάρμακα , τοξικά αέρια) ,τη λύση των μικροβίων από τα φαγοκύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και γενικά τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις ,κατά τις οποίες απελευθερώνονται τοξικές ουσίες από τα λευκοκύτταρα για την εξουδετέρωση των παθογόνων μικροοργανισμών ,όπως  $H_2O_2$  . Παράδειγμα τοξικού αερίου που χρησιμοποιείται σε βιομηχανική βάση ,είναι ο τετραχλωράνθρακας  $CCl_4$  ,ο οποίος μεταβολίζεται από το λείο ενδοπλασματικό δίκτυο σε ρίζα  $CCl_3$  που προκαλεί κυτταρικές βλάβες. Υπενθυμίζεται ότι το λείο ενδοπλασματικό δίκτυο με τα ένζυμα που βρίσκονται στις μεμβράνες του καθώς και τα υπεροξειδωμάτα ,συμμετέχει στις αντιδράσεις αποτοξίνωσης του οργανισμού (εικόνα 1).



Λείο ενδοπλασματικό δίκτυο

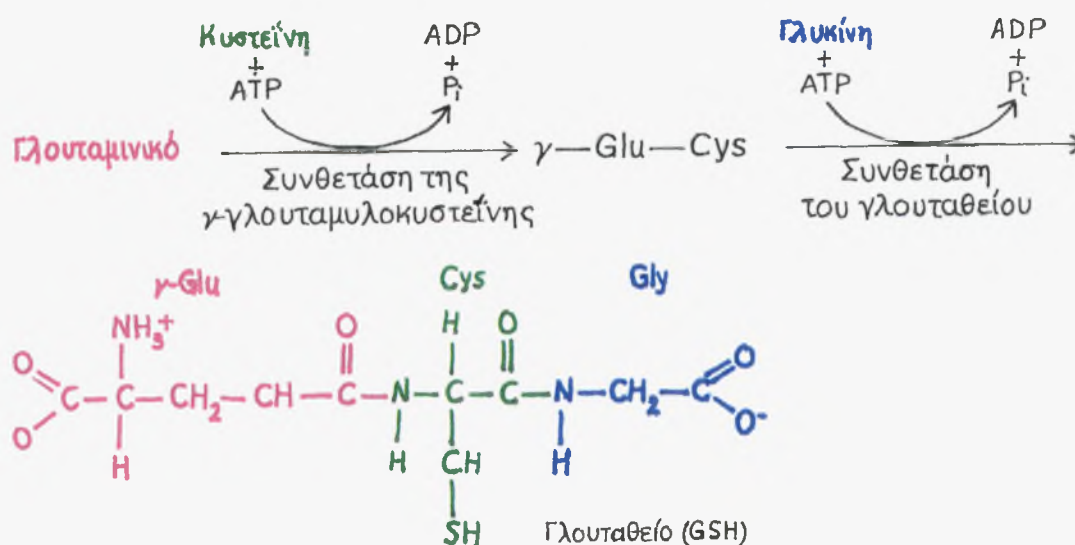


Εικόνα 1. Το λείο ενδοπλασματικό δίκτυο συμμετέχει στην αποτοξίνωση του οργανισμού.

Καθώς ο οργανισμός γηράσκει ,εκτίθεται όλο και περισσότερο σε ελεύθερες ρίζες ενώ ταυτόχρονα τα ενδογενή ένζυμα που διαθέτει τα οποία προσφέρουν αντιοξειδωτική προστασία ,χάνουν σιγά-σιγά την ενεργότητά τους. Γι' αυτό ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που συμβάλλουν στο γήρας είναι οι από τις ελεύθερες ρίζες προκαλούμενες κυτταρικές βλάβες.

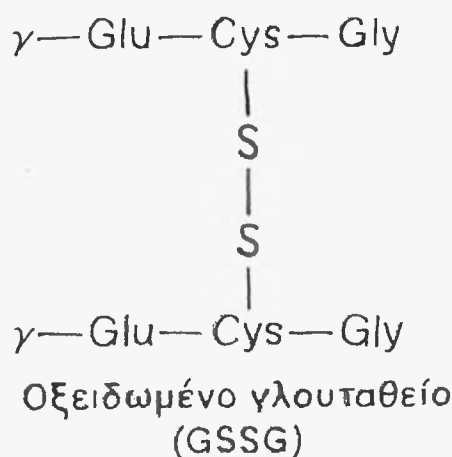
Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Reactive Oxygen Species ,ROS) ,παράγονται κατά την διάρκεια οξειδωτικών αντιδράσεων που καταλύονται από διάφορες οξειδάσες (οξειδάση της ξανθίνης ,κυτόχρωμα P450 κ.ά) ,σε διάφορα μέρη του κυττάρου όπως το ενδοπλασματικό δίκτυο ,τα υπεροξεισώματα και το κυτοσόλιο αλλά ιδίως από οξειδωτικά ένζυμα της μιτοχονδριακής μεμβράνης , στην οποία λαμβάνει χώρα η οξειδωτική φωσφορυλίωση (κυτταρική αναπνοή) .

Οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται ,όπως η ρίζα του υπεροξειδίου  $O_2^{\bullet -}$  και η ρίζα υδροξυλίου  $OH^{\bullet}$  ,εξουδετερώνονται από προστατευτικά ένζυμα του οργανισμού όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου (Superoxide Dismutase ,SOD) που σχηματίζει  $H_2O_2$  από 2 μόρια  $O_2^{\bullet -}$  . Εν συνεχεία η καταλάση (ένα άλλο αντιοξειδωτικό ένζυμο) ,ανάγει το σχηματιζόμενο  $H_2O_2$  δηλ. το τοξικό υπεροξείδιο του υδρογόνου ή οξυζενέ σε  $H_2O$  και  $O_2$  . Ας σημειωθεί πως η καταλάση βρίσκεται σε μεγάλη συγκέντρωση στα ερυθροκύτταρα αφού η ζωτικής σημασίας λειτουργικότητά τους καθιστά επιτακτική την ανάγκη αντιοξειδωτικής προστασίας. Ένα άλλο σημαντικό ένζυμο που συμμετέχει σε αντιδράσεις αποτοξίνωσης ,είναι η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης . Η γλουταθειόνη ή γλουταθείο (GSH) είναι ένα τριπεπτιδίο ,που συντίθεται σε 2 στάδια : στο πρώτο στάδιο ,η συνθετάση της γ-γλουταμυλοκυστεΐνης με υδρόλυση ενός μορίου ATP ενεργοποιεί την γ-καρβοξυλομάδα του γλουταμινικού οξέος και την ενώνει με την αμινομάδα της κυστεΐνης ,σχηματίζοντας τον πρώτο πεπτιδικό δεσμό (εικόνα 2).



Εικόνα 2. Η βιοσύνθεση του γλουταθείου.

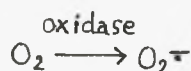
Στο δεύτερο στάδιο ,η συνθετάση του γλουταθείου πάλι με την κατανάλωση ενός ATP ,ενεργοποιεί την καρβοξυλομάδα της κυστεΐνης και την κάνει έτσι ικανή για την δημιουργία του δεύτερου κατά σειρά πεπτιδικού δεσμού με την αμινομάδα της γλυκίνης. Κατ' αυτόν τον τρόπο σχηματίζεται το γλουταθείο στην ανηγμένη του μορφή ,το οποίο μετέχοντας σε αντιδράσεις εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών προσφέρει το υδρογόνο της σουλφυδρυλομάδας του και σχηματίζει γέφυρα θείου S-S με ένα άλλο μόριο γλουταθείου που επίσης έχει οξειδωθεί με παρόμοιο τρόπο μεταπίπτοντας στην οξειδωμένη του μορφή GSSG (εικόνα 3).



Εικόνα 3. Η οξειδωμένη μορφή του γλουταθείου.

Η αναγωγή του γλουταθείου με κατανάλωση ενός NADPH ,το επαναφέρει στην ανηγμένη του μορφή GSH ώστε να είναι σε θέση να πάρει μέρος σε μία επόμενη αντίδραση αποτοξίνωσης .Το γλουταθείο διαθέτει στο ενεργό του κέντρο ένα άτομο σεληνίου Se απόλυτα σημαντικό για την λειτουργικότητά του και γι'αυτό τροφές που περιέχουν το συγκεκριμένο ιχνοστοιχείο όπως ο κρόκος του αυγού ,θεωρείται ότι συντελούν στην χημειοπροφύλαξη και προστατεύουν από την καρκινογένεση.

Ελεύθερες ρίζες ,σχηματίζονται και στις ιογενείς λοιμώξεις όταν τοξικές ουσίες από τα Τ κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα ή τα NK , απελευθερώνονται για να σκοτώσουν τα μολυσμένα με τον ιό κύτταρα του οργανισμού.



1. Αντίδραση οξείδωσης



2. Διάσπαση του νερού από  
ιονίζουσα γ ακτινοβολία



3. Αντίδραση Fenton

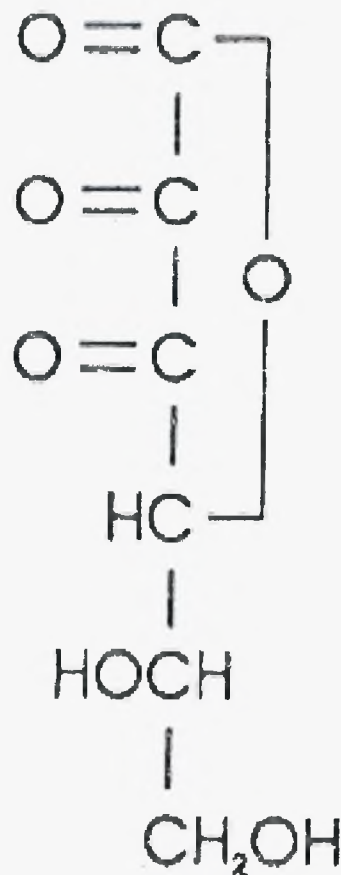


4. Αντίδραση Haber-Weiß

Εικόνα 4. Τρόποι παραγωγής ελευθέρων ριζών.



Στην εικόνα 4 φαίνονται διάφοροι τρόποι παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ή ROS ,παράγονται από ορισμένες αντιδράσεις οξείδωσης ,από την υδρόλυση του νερού με ακτίνες γ ,μέσω της αντίδρασης Fenton ή της αντίδρασης Haber-Weiß .Κατά την αντίδραση Fenton ,μεταβατικά μέταλλα όπως ο δισθενής σίδηρος και ο χαλκός στην ανηγμένη του μορφή +1 ,αντιδρούν με υπεροξείδιο του υδρογόνου  $H_2O_2$  προς σχηματισμό  $OH^\bullet$  και ρίζας υδροξυλίου  $OH^\bullet$  ενώ τα ίδια τα μεταβατικά μέταλλα μεταπίπτουν συγχρόνως στην οξειδωμένη τους μορφή (τρισθενής σίδηρος και δισθενής χαλκός αντίστοιχα). Γι' αυτό αναγωγικές ουσίες όπως η βιταμίνη C ή ασκορβικό οξύ (εικόνα 5) ,δεν θα πρέπει να έρχονται σε επαφή με μεταβατικά μέταλλα καθώς προκαλούν την αναγωγή τους προωθώντας το σχηματισμό ROS. Είναι άκρως απαγορευτικό λοιπόν να φτιάχνεται για παράδειγμα πορτοκάλι γλυκό σε χάλκινα σκεύη που δεν είναι γανωμένα ,αφού έτσι σχηματίζονται επικίνδυνες ρίζες υδροξυλίου  $OH^\bullet$  .



Βιταμίνη C

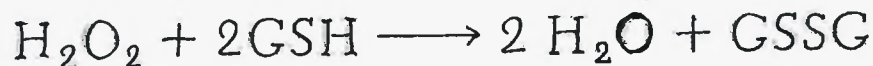
Εικόνα 5.

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης ,καταλύει την αντίδραση κατά την οποία το γλουταθειό προσφέρεται υδρογόνο της ελεύθερης σουλφυδρυλομάδας του -SH για τον σχηματισμό νερού από 2  $\text{OH}^\bullet$  ή την αναγωγή του  $\text{H}_2\text{O}_2$  που δύναται να παράγει ROS ,σε νερό (εικόνα 6) :

### *Glutathione peroxidase*

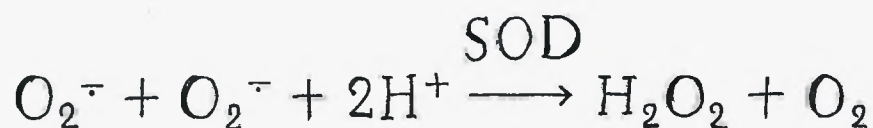


or

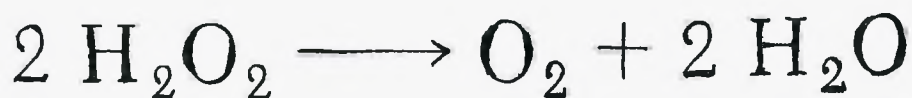


Εικόνα 6. Η καταλυτική δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης.

Οι αντιδράσεις που καταλύονται από την δισμουτάση του υπεροξειδίου SOD και την καταλάση ,είναι οι ακόλουθες :

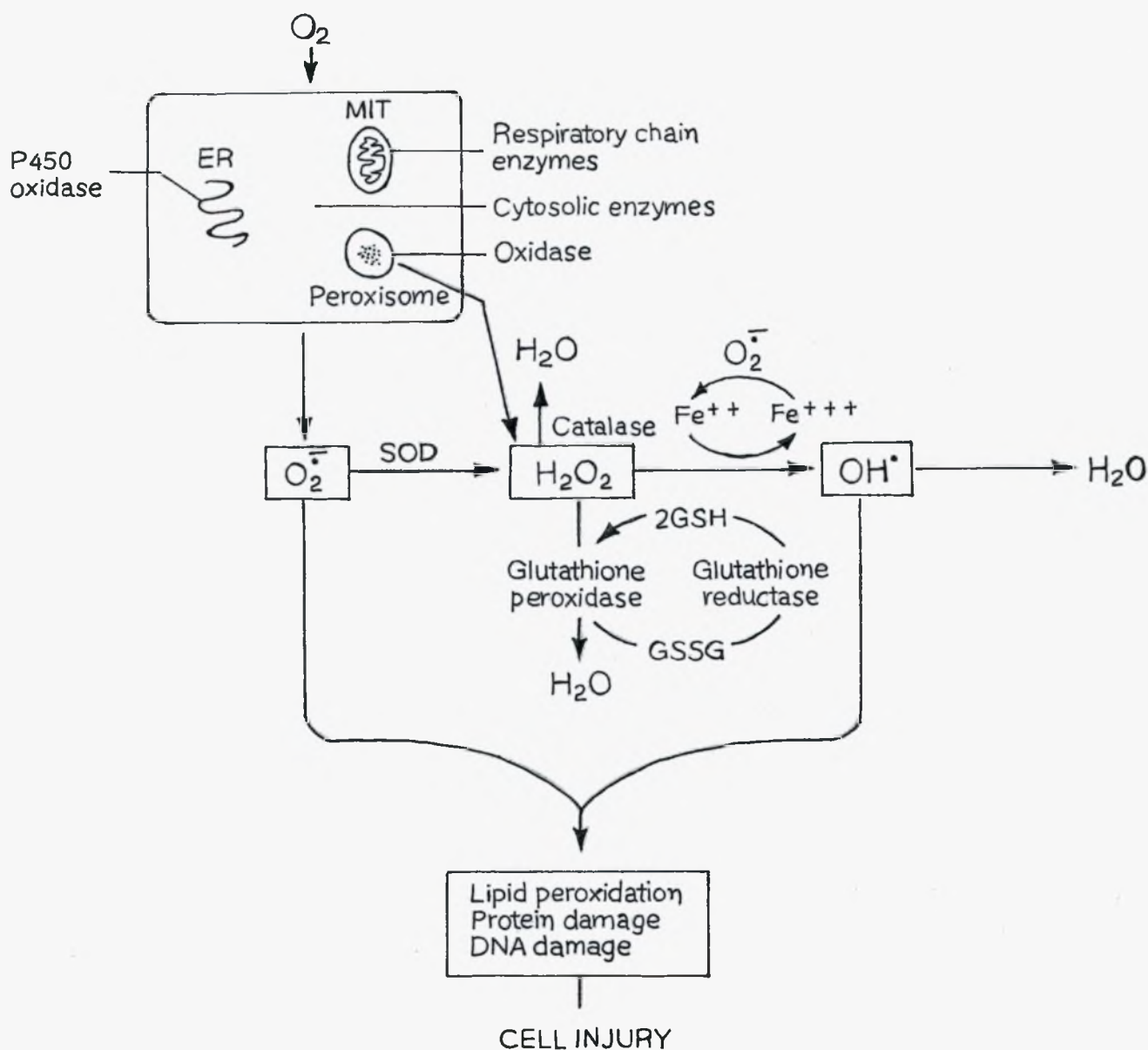


### *Catalase*



Εικόνα 7. Σύνοψη αντιδράσεων

Συνοπτικά δηλαδή (εικόνα 8), τα οξειδωτικά ένζυμα σε διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα όπως η οξειδάση του κυτοχρώματος P450 στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Endoplasmic Reticulum, ER) τα μιτοχονδριακά ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας καθώς και οξειδάσες των υπεροξεισωμάτων ή του κυτοσολίου, κάνοντας χρήση του περιβαλλοντικού οξυγόνου δημιουργούν ως καταλυτικά παραπροϊόντα ρίζα  $O_2^{\bullet-}$ . Η τοξική αυτή ρίζα, μετατρέπεται από την SOD σε  $H_2O_2$  το οποίο με τη σειρά του ανάγεται από την καταλάση σε νερό. Ο δισθενής όμως Fe μέσω της αντίδρασης Fenton, μπορεί να αντιδράσει με το  $H_2O_2$  εάν τα μόριά της δεν είναι επαρκή ή η δραστηριότητά της είναι μειωμένη, προς σχηματισμό  $OH^{\bullet}$ .



Εικόνα 8. Σύνοψη μηχανισμού επαγωγής κυτταρικής βλάβης από ROS.

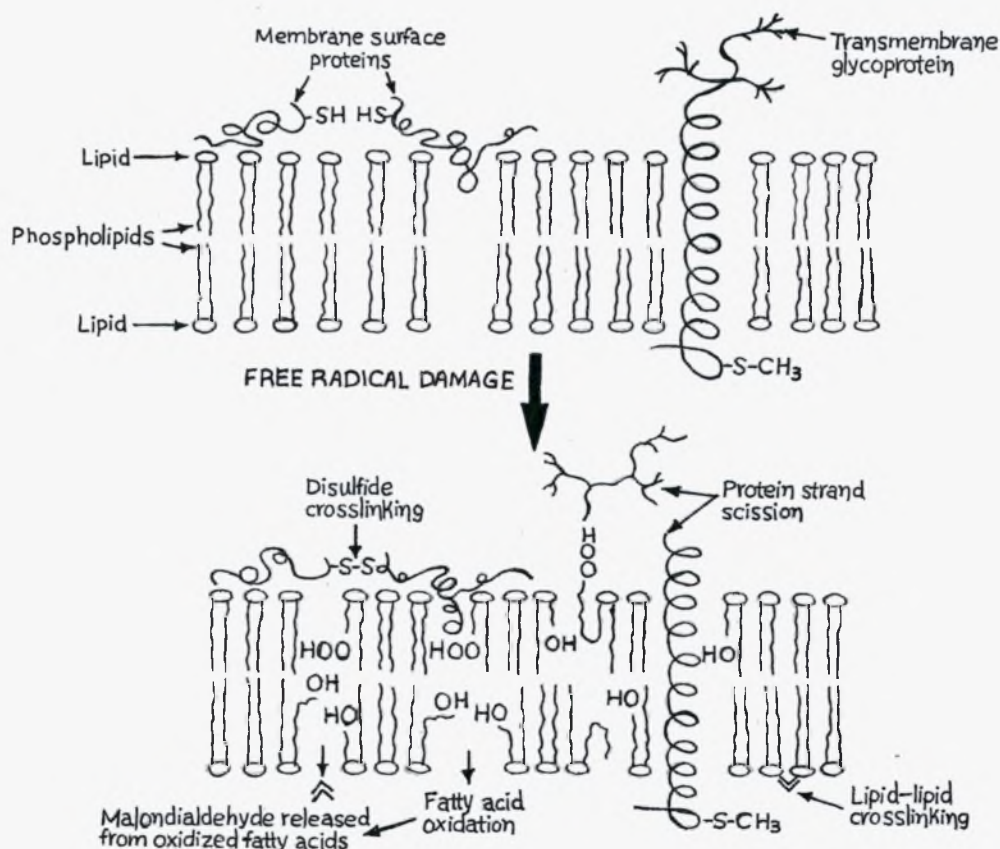


Μάλιστα ,οι ρίζες υπεροξειδίου  $\text{O}_2^{\bullet -}$  ανάγουν τον οξειδωμένο τρισθενή σίδηρο πάλι σε δισθενή ,καθιστώντας τον ικανό να μετέχει ξανά στην αντίδραση Fenton κι έτσι ενισχύει την παραγωγή επιπλέον ελευθέρων ριζών (πρόκειται δηλ. για έναν αυτοενισχυόμενο κύκλο κατάλυσης).

Η γλουταθειόνη εξουδετερώνει τις ρίζες υδροξυλίου που παράγονται κατά την αντίδραση Fenton αλλά και το υπεροξείδιο του υδρογόνου ,δρώντας έτσι συνεργειστικά με την καταλάση .Η δε υπεροξειδάση της γλουταθειόνης καταλύει την αντίδραση εξουδετέρωσης ενώ η αναγωγή ή ρεδοκτάση του γλουταθειού, συμβάλλει στον επανασχηματισμό του ανηγμένου γλουταθειού GSH από την οξειδωμένη μορφή του GSSG που παράγεται κατά την διαδικασία εξουδετέρωσης των ριζών .Αν ωστόσο οι ποσότητες των ενδογενών αντιοξειδωτικών ενζύμων του οργανισμού (SOD ,καταλάση ή υπεροξειδάση της γλουταθειόνης) είναι ανεπαρκείς π.χ λόγω κορεσμού των ενεργών τους κέντρων από υπερβολικές ποσότητες μεταβολιζόμενων τοξικών ουσιών ή η δραστηριότητά τους είναι ελαττωμένη


(γήρανση) ,σημαντικές ποσότητες ROS όπως  $\text{O}_2^{\bullet -}$  και  $\text{OH}^{\bullet}$  διαφεύγουν, προκαλώντας κυτταρικές βλάβες .Σε αυτές συγκαταλέγονται καταστροφή των μεμβρανών και λιπιδιακή υπεροξείδωση , οξειδωτική καταστροφή των πρωτεϊνών – δομικών και λειτουργικών- αλλά και βλάβες στο γενετικό υλικό που προάγουν την καρκινογένεση.

Από τις πρώτες κυτταρικές δομές που υφίστανται βλάβη ,είναι η πλασματική μεμβράνη (εικόνα 9) .



Εικόνα 9. Βλάβες της κυτταρικής μεμβράνης από ελεύθερες ρίζες .

Λόγω της λιπιδιακής υπεροξειδωσης, τα λιπίδια γίνονται περισσότερο υδρόφιλα και μετατοπίζονται από το εσωτερικό της διπλοστιβάδας σε πιο επιφανειακές θέσεις. Είται προς το εξωτερικό του κυττάρου, είται προς το κυτοσόλιο ώστε να έρχονται σε επαφή με το υδάτινο περιβάλλον, γεγονός που διαταράσσει την ομαλή αρχιτεκτονική του ρευστού μωσαϊκού. Επίσης δημιουργούνται ομοιοπολικές διασυνδέσεις λιπιδίων και πρωτεϊνών μέσω γεφυρών θείου S-S (crosslinking), διασπώνται οι οι γλυκοπρωτεΐνες χάνοντας την γλυκοσυλομάδα τους (καταστροφή του γλυκοκάλυκα) και μέσω της λιπιδιακής υπεροξειδωσης παράγεται μαλονική διαλδεΰδη MDA

$\text{OHC}-\text{CH}_2-\text{CHO}$  ή  η οποία όπως θα δούμε στη συνέχεια, είναι πολύ επιβλαβής για τα βιομόρια και συνεπώς τοξική για το κύτταρο.

Ως αποτέλεσμα, μεταβάλλεται η διαπερατότητα της μεμβράνης σε ηλεκτρολύτες (οσμωτική ισορροπία) και εισέρχονται στο κύτταρο μεγάλες ποσότητες  $\text{Ca}^{++}$  (calcium influx), κάτι που είναι χαρακτηριστικό των κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβες. Το σε περίσσεια ασβέστιο, ενεργοποιεί πρωτεολυτικές κασπάσες (σηματοδοτικό έναυσμα απόπτωσης) καθώς και οξειδάσες που οξειδώνουν τις ζωτικές για την λειτουργία διαφόρων ενζύμων ελεύθερες σουλφυδρυλομάδες  $-\text{SH}$ , συμβάλλοντας έτσι σε περαιτέρω κυτταρική βλάβη.

## Λιπιδιακή υπεροξειδωση

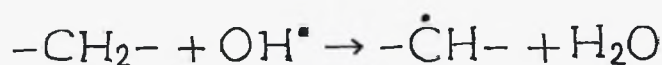
Η υπεροξειδωση των λιπιδίων, διακρίνεται σε 2 στάδια :

- α) Την έναρξη (initiation) και
- β) Την διάδοση (propagation)

Η ρίζα υδροξυλίου  $\text{OH}^\bullet$  είναι ικανή να αρχίσει την υπεροξειδωση, με το να αποσπάσει ένα υδρογόνο από κάποιον άνθρακα μίας ομάδας μεθυλενίου  $-\text{CH}_2-$

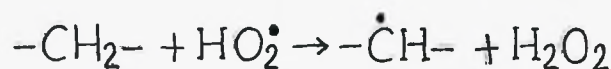
Από την μακριά ανθρακική αλυσίδα που διαθέτει ένα λιπαρό οξύ το οποίο είναι εστεροποιημένο στην πλασματική μεμβράνη ή μία λιτοπρωτεΐνη. Η παρουσία μάλιστα διπλού ή διπλών δεσμών σε ακόρεστα λιπαρά οξέα, ευνοεί θερμοδυναμικά την απόσπαση του υδρογόνου κι επομένως την αρχή της υπεροξειδωσης (εικόνα 10):

### Initiation

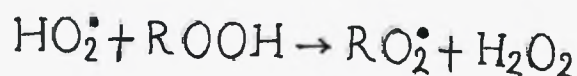


Εικόνα 10. Η αρχή της λιπιδιακής υπεροξειδωσης

Η πρωτονιωμένη μορφή της  $\text{O}_2^{\bullet-}$  ρίζας υπεροξειδίου,  $\text{HO}_2^{\bullet}$  μπορεί επίσης να αρχίσει την λιπιδιακή υπεροξειδωση, τόσο αποσπώντας ένα υδρογόνο από μία μεθυλενική ομάδα λιπαρού οξέος όσο και από κάποιο προσχηματισμένο λιπιδιακό υδροϋπεροξειδίο, το οποίο θα δούμε στη συνέχεια πώς σχηματίζεται (εικόνα 11) :

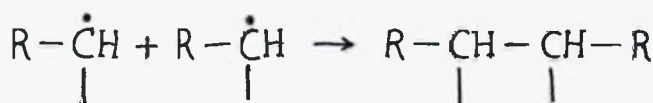


ή

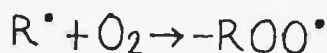


Εικόνα 11. Εναλλακτικός τρόπος έναρξης της λιπιδιακής υπεροξειδωσης .

Έτσι λοιπόν, σχηματίζεται μία ελεύθερη ρίζα  $\text{R}-\dot{\text{C}}\text{H}$  ή  $\text{R}^{\bullet}$ . Από εδώ και πέρα 2 είναι οι πιθανές τύχες της ρίζας αυτής : ή θα αντιδράσει με μία όμοια ρίζα ώστε τα δύο λιπαρά οξέα να συζευχθούν ή θα αντιδράσει με μοριακό οξυγόνο για να δώσει ρίζα υπεροξειδίου  $\text{ROO}^{\bullet}$ .



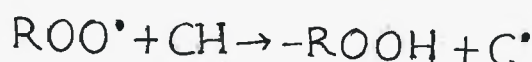
ή



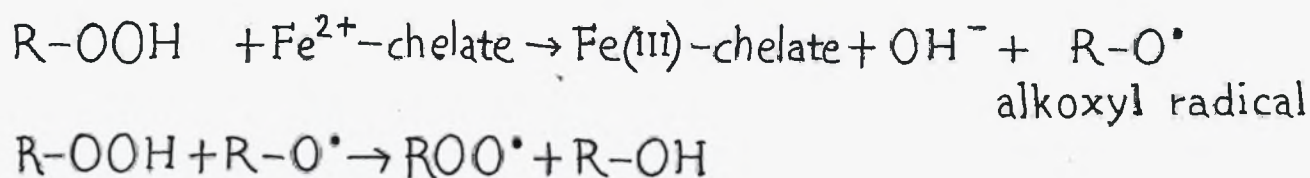
Εικόνα 12. Σύζευξη 2 ριζών λιπαρών οξέων (conjugation) ή σχηματισμός ρίζας υπεροξειδίου .

Η ρίζα αυτή του υπεροξειδίου ,είναι ικανή να αποσπά ένα πρωτόνιο από ένα άλλο λιπίδιο ,μετατρέποντάς το σε ελεύθερη ρίζα ενώ η ίδια η ρίζα του υπεροξειδίου μετατρέπεται σε αδρανές πλέον υδροϋπεροξειδίο ,ROOH . Οπότε και αναφερόμαστε στο στάδιο της διάδοσης της λιπιδιακής υπεροξειδωσης ,καθώς η ρίζα του άνθρακα C· που σχηματίζεται ,μπορεί να αντιδράσει με οξυγόνο προς σχηματισμό μίας άλλης ρίζας υπεροξειδίου -COO· η οποία μπορεί να καταλύσει την ίδια ακριβώς αντίδραση, προσβάλλοντας ένα επόμενο λιπαρό οξύ κι έτσι οι αντιδράσεις συνεχίζονται αλυσιδωτά (chain reaction of lipid peroxidation) .Στην ίδια αντίδραση διάδοσης μπορούν να μετέχουν και ρίζες αλκοξειδίου RO· που σχηματίζονται από την προσβολή του υδροϋπεροξειδίου από τον Fe<sup>++</sup> ενώ οι RO· ανάγονται σε αλκοόλες :

propagation stage

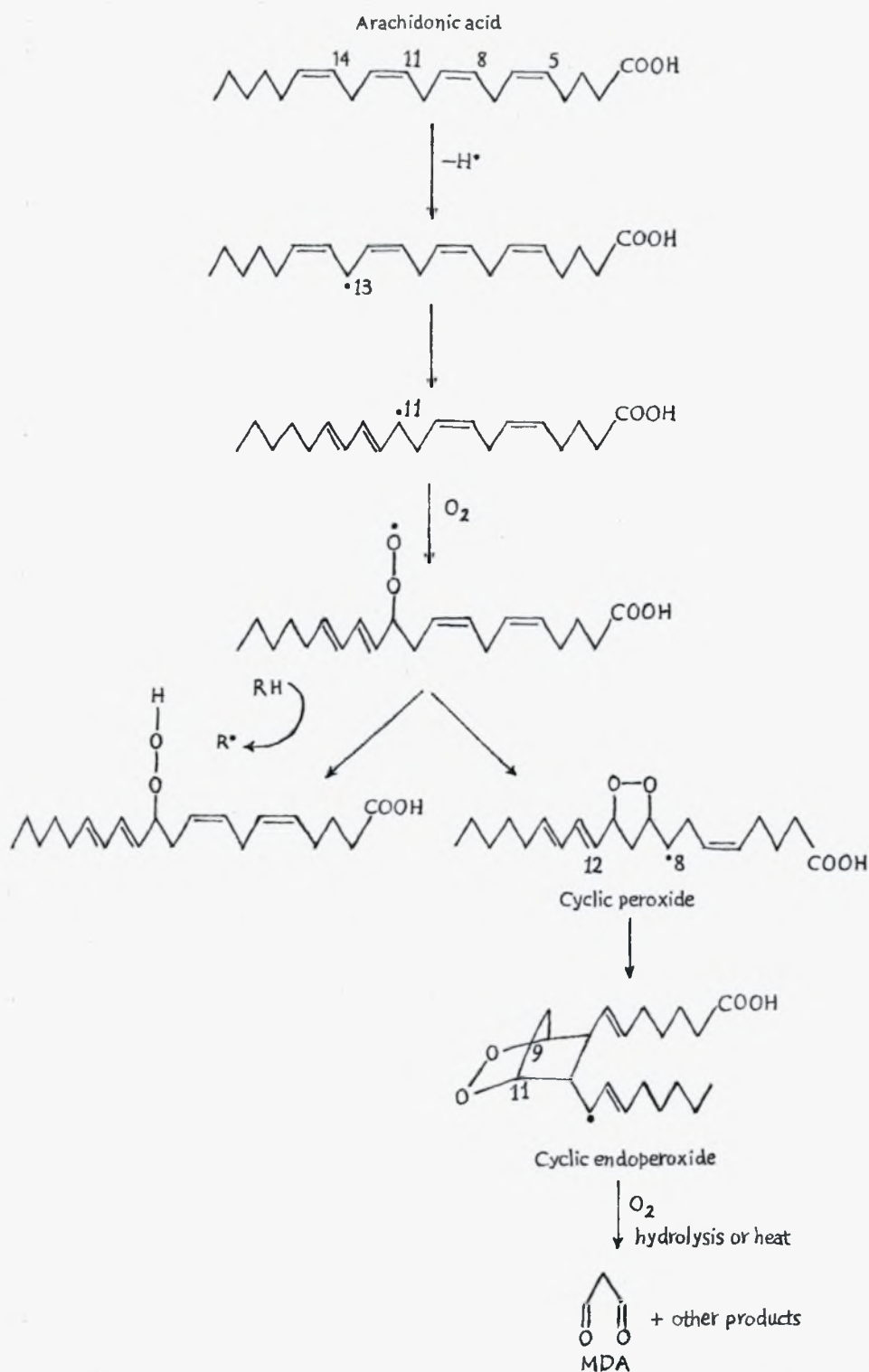


ή



Εικόνα 13. Η διάδοση της λιπιδιακής υπεροξειδωσης .

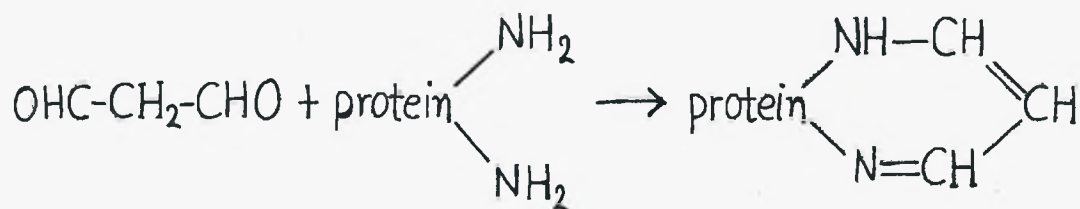
Αξιοσημείωτο είναι πως από την λιπιδιακή υπεροξειδωση παράγονται όχι μόνο τοξικές ρίζες υπεροξειδίου αλλά και τοξικές αλδεϋδες όπως γίνεται κατά την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος ,ενός εικοσανοειδούς . Από την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος όπως φαίνεται και στην εικόνα 14, σχηματίζεται η τοξική μαλονική διαλδεϋδη (MDA) . Η απόσπαση ενός υδρογόνου λόγω προσβολής από ROS ,μπορεί να γίνει είτε στον άνθρακα 13 είτε στον άνθρακα 10 ή 17 ,οπότε και προκύπτουν διαφορετικά κάθε φορά είδη κυκλικών υπεροξειδίων .



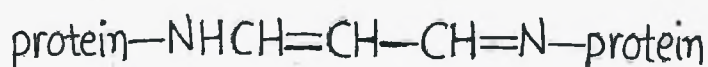
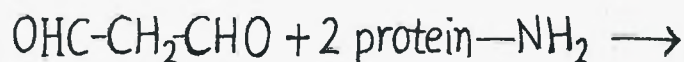
Εικόνα 14. Η παραγωγή MDA από την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος .

Η τοξικότητα του MDA έγκειται στο γεγονός ότι "επιτίθεται" σε πρωτεΐνες του κυττάρου, ιδίως σε κατάλοιπα λυσίνης δημιουργώντας ενδομοριακές και διαμοριακές διασυνδέσεις ώστε οι πρωτεΐνες να χάνουν τη λειτουργικότητά τους (intramolecular and intermolecular cross-links), όπως φαίνεται και στην εικόνα 15 παρακάτω :





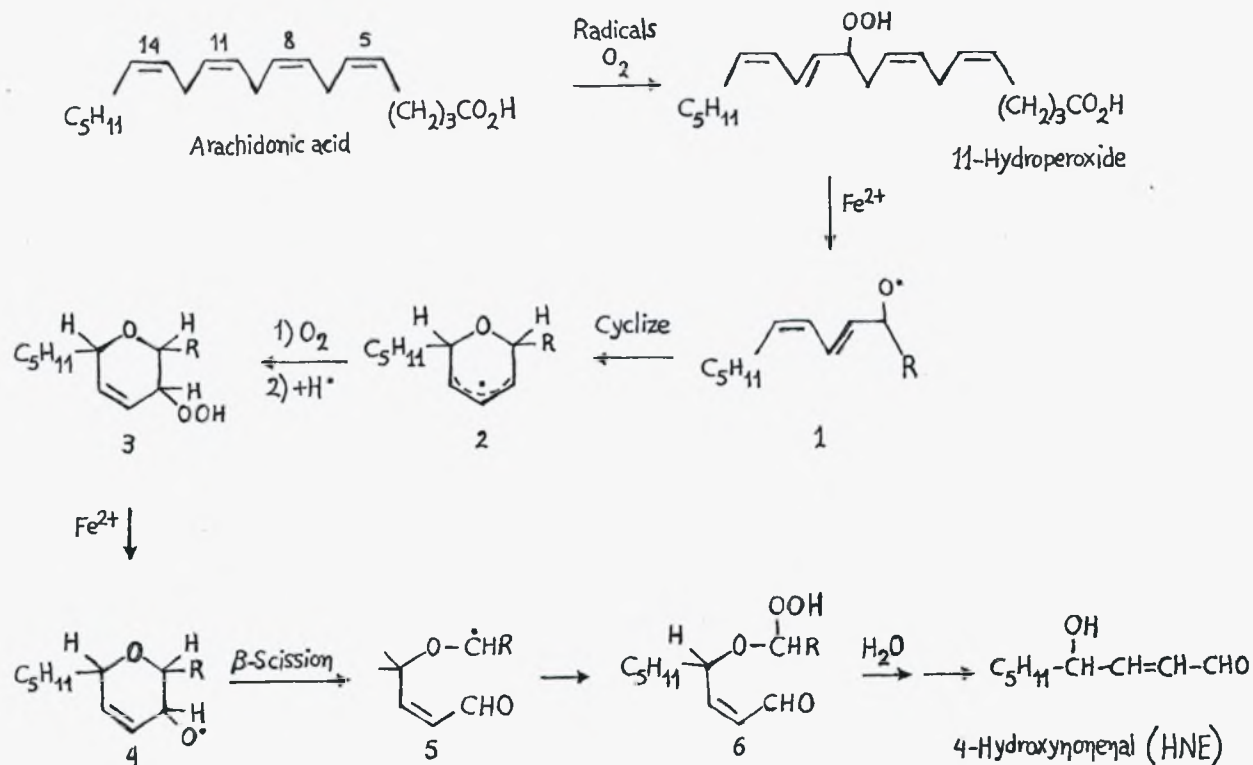
intramolecular cross-link



intermolecular cross-link

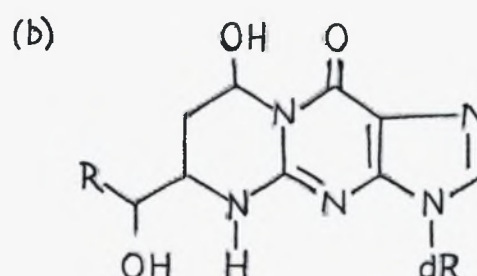
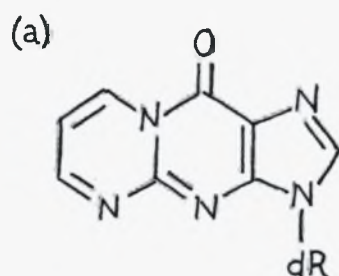
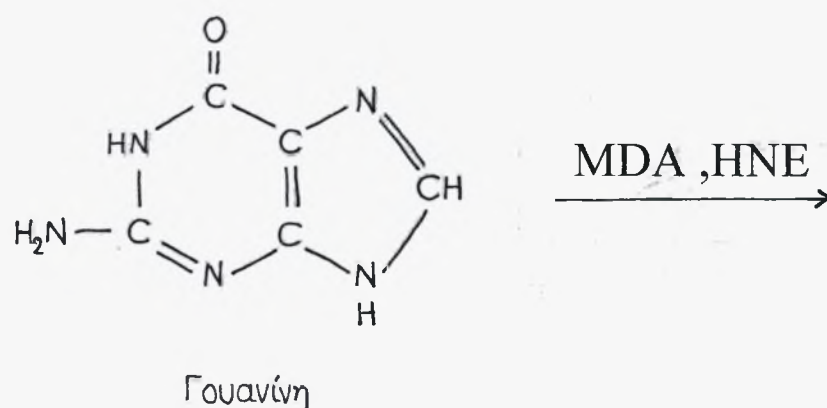
Εικόνα 15. Οι προκαλούμενες από το MDA βλάβες στις πρωτεΐνες .

Από την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος που παρουσιάστηκε παραπάνω , μπορεί να παραχθεί και μία άλλη τοξική αλδεύδη , η 4-υδροξυνοενάλη (HNE) .Από την προσβολή με ROS παράγεται πρώτα 11-υδροϋπεροξείδιο και εν συνεχεία παρουσία ανηγμένου δισθενή σιδήρου πραγματοποιείται κυκλοποίηση ,β-οξειδωτική διάσπαση και τελικά παραγωγή 4-υδροξυνοενάλης (εικόνα 16) :



Εικόνα 16 .Η παραγωγή HNE από την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος .

Τόσο το MDA όσο και η HNE αντιδρούν με βάσεις του DNA όπως η γουανίνη και το τροποποιούν προκαλώντας G→T μεταλλάξεις μεταστροφής (transversions) ή A→G μεταπτώσεις (transitions) αλλά και μεταλλάξεις μετατόπισης αναγνωστικού πλαισίου (frameshift mutations). Έτσι η παραγωγή MDA και HNE οδηγεί σε καρκινογένεση. Το MDA οξειδώνεται και αδρανοποιείται από διοξυγενάσες σε μαλονικό οξύ ενώ η HNE οξειδώνεται σε 4-υδροξυνονεοϊκό οξύ *in vivo*.



Εικόνα 17 α. Η ομοιοπολική ένωση του MDA και β. της HNE με την γουανίνη.

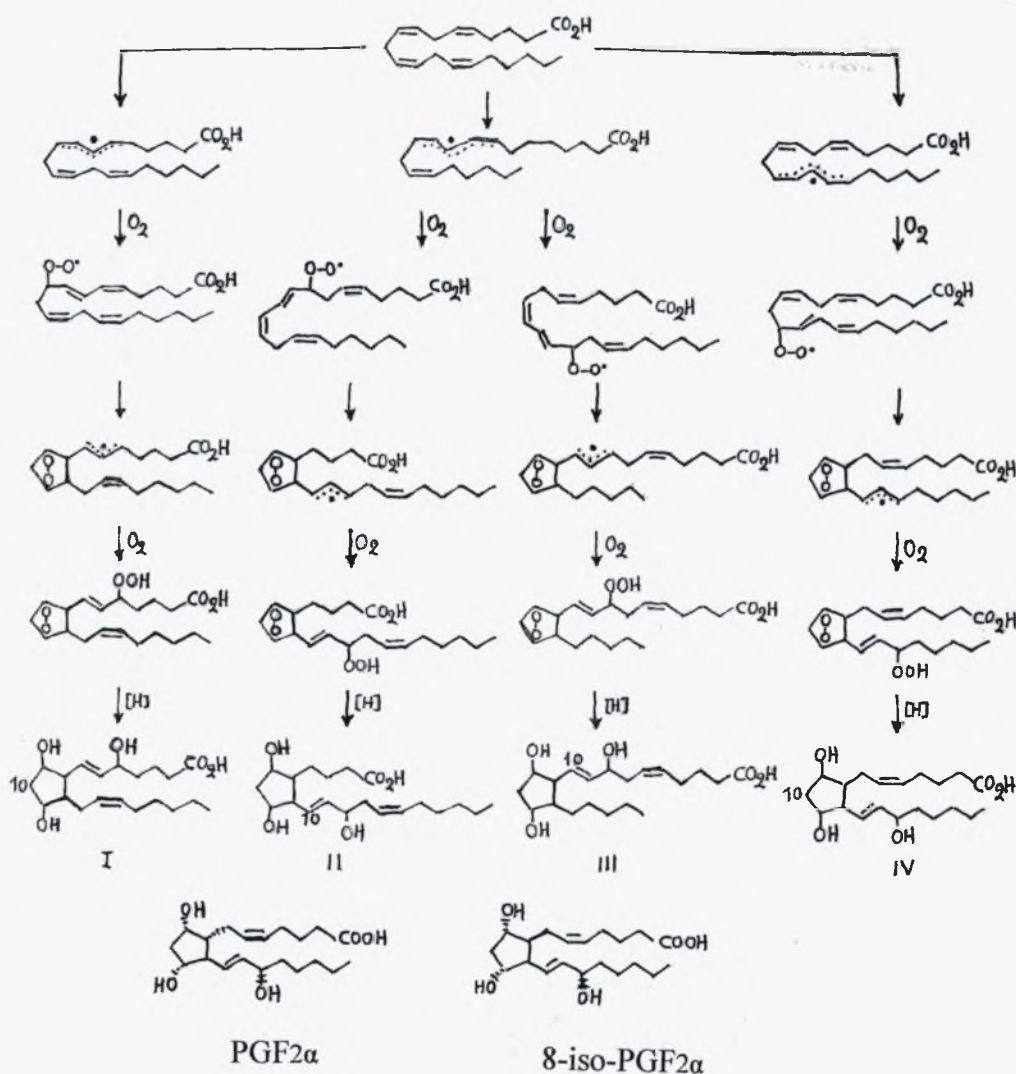
Ας σημειωθεί ότι η HNE μπορεί επίσης να συνδέεται ομοιοπολικά με την αμινομάδα -NH<sub>2</sub> πρωτεϊνών και μεμβρανικών φωσfolιπιδίων ,προκαλώντας περαιτέρω κυτταρικές βλάβες.

Μία ιδιαίτερη κατηγορία τοξικών προϊόντων (toxic adducts) που προκύπτουν πάλι από την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος ,είναι οι ισοπροστάνες οι οποίες μοιάζουν δομικά με την προσταγλανδίνη PGF<sub>2α</sub>. Η 8-iso- PGF<sub>2α</sub> ισοπροστάνη μάλιστα ,αποτελεί έναν ισχυρό νεφρικό αγγειοσυστολέα που μειώνει στο μισό τη νεφρική αιμάτωση και την σπειραματική διήθηση. Έτσι υψηλές συγκεντρώσεις ισοπροστανών στο πλάσμα του αίματος λόγω εκτεταμένου οξειδωτικού stress ,είναι

δυνατό να προκαλέσουν ακόμα και ηπατονεφρικό σύνδρομο· μία θανατηφόρο επιπλοκή νεφρικής ανεπάρκειας (renal deficiency) ,σε ασθενείς με ηπατική νόσο . Γι'αυτό οι νεφροπαθείς είναι κατεξοχήν ευαίσθητα άτομα όσον αφορά τις επιπτώσεις του οξειδωτικού stress και πρέπει να αποφεύγουν παράγοντες που το επάγουν όπως το κάπνισμα αλλά και να φροντίζουν η διατροφή τους να είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές βιταμίνες A ,C και E που το αναχαιτίζουν (free radical scavengers) . Συνίσταται δε η συχνή κλινική παρακολούθηση των τιμών της κρεατινίνης και του ρυθμού σπειραματικής διήθησης GFR που αποτελούν δείκτες της νεφρικής λειτουργίας.

Αυξημένη απέκκριση ισοπροστανών στα ούρα ,παρατηρείται και σε ασθενείς που πάσχουν από σκληρόδερμα ,μία αυτοάνοση ασθένεια με γενετική βάση που οδηγεί σε προοδευτική ίνωση του δέρματος ,των πνευμόνων και του πεπτικού σωλήνα και τελικά τον θάνατο .

#### Αραχιδονικό οξύ

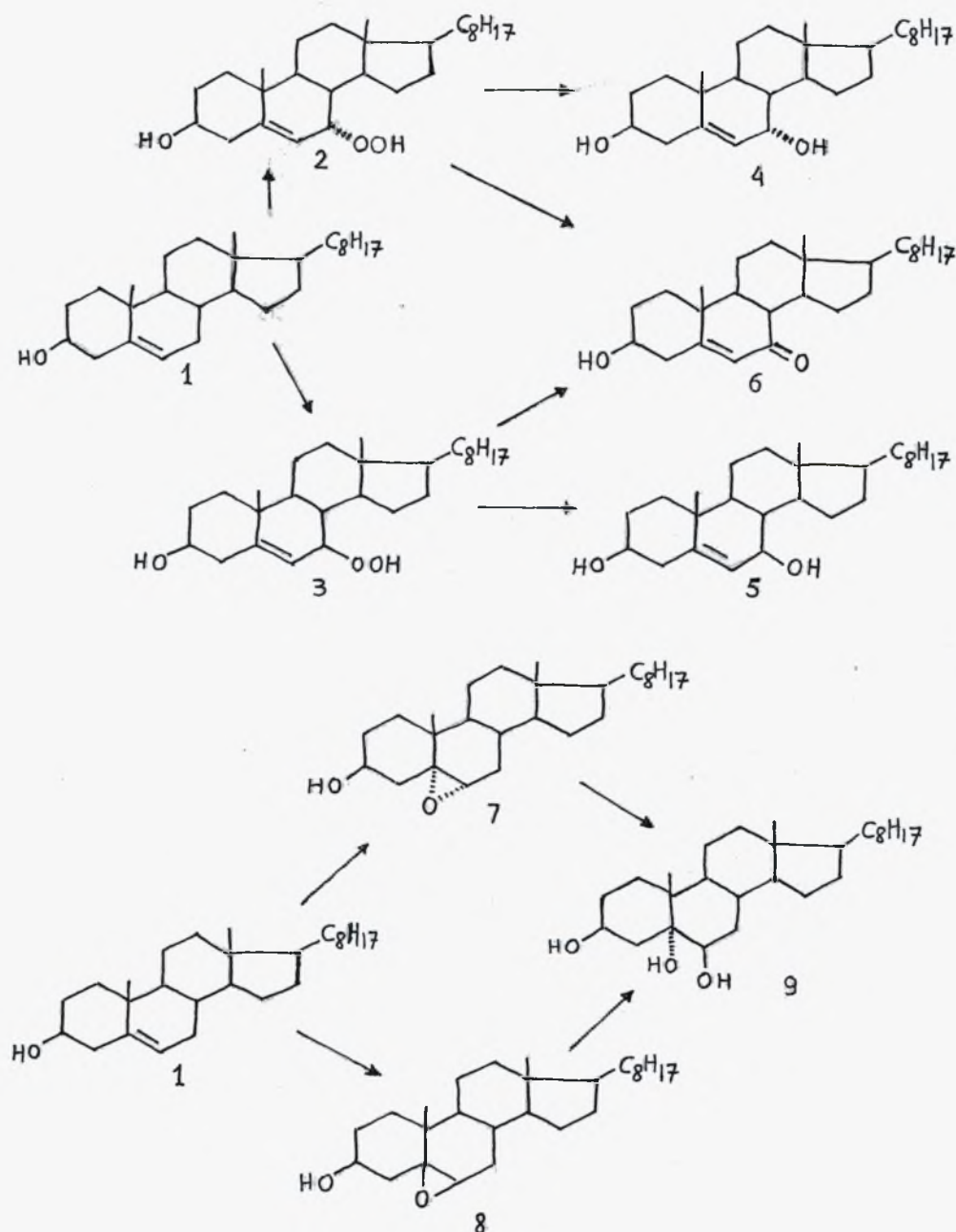


Εικόνα 18 .Ο σχηματισμός 4 διαφορετικών ειδών F2-ισοπροστανών λόγω απόσπασης υδρογόνου από διαφορετικές θέσεις του μορίου του αραχιδονικού οξέος .

Επίσης, η 8-iso-PGF<sub>2α</sub> (εικόνα 18) ισοπροστάνη επιταχύνει την ικανότητα των αιμοπεταλίων προς σχηματισμό θρόμβου κατά την πήξη του αίματος.

Από την λιπιδιακή υπεροξείδωση, δε θα μπορούσαμε φυσικά να παραλείψουμε και την υπεροξείδωση που υφίσταται η χοληστερόλη όταν δέχεται προσβολή από ROS.

Όπως φαίνεται και στην εικόνα 19, προκύπτουν διάφορα οξειδωμένα παράγωγα από την χοληστερόλη. Η υπεροξείδωση δε της χοληστερόλης εγκυμονεί μεγάλους κινδύνους υγείας, καθώς η οξειδωμένη μορφή της LDL προσλαμβάνεται από τον ειδικό υποδοχέα των αγγειακών μακροφάγων ώστε αυτά να μετατραπούν σε αφροκύτταρα, πολύ πιο γρήγορα απ' ό,τι η μη οξειδωμένη, κάτι που προωθεί την δημιουργία αθηροσκληρωτικής πλάκας και την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου.

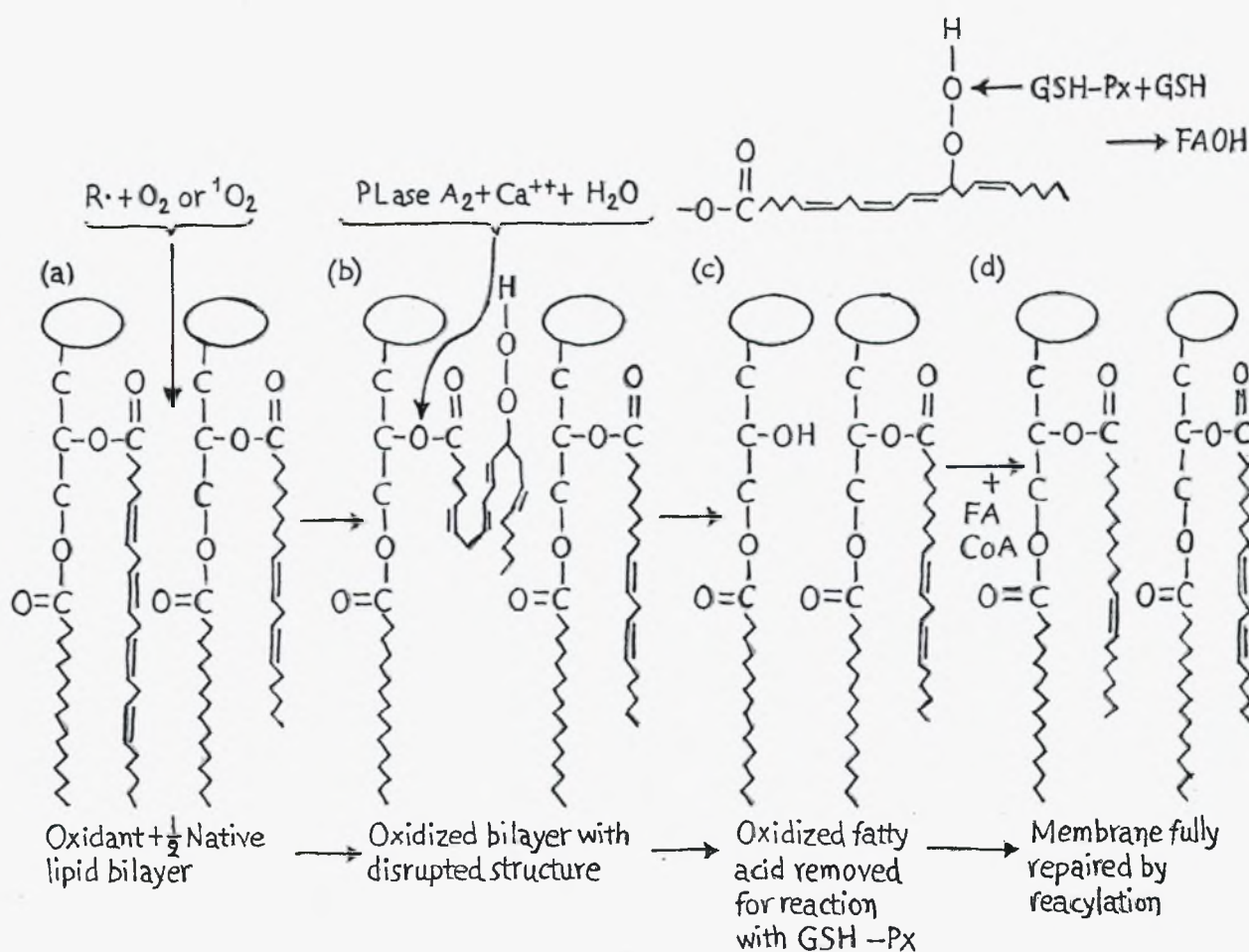


Εικόνα 19. Τρόποι υπεροξείδωσης της χοληστερόλης.

Ως γνωστό, τα αφροκύτταρα είναι τα κύρια συστατικά της αθηροσκληρωτικής πλάκας.



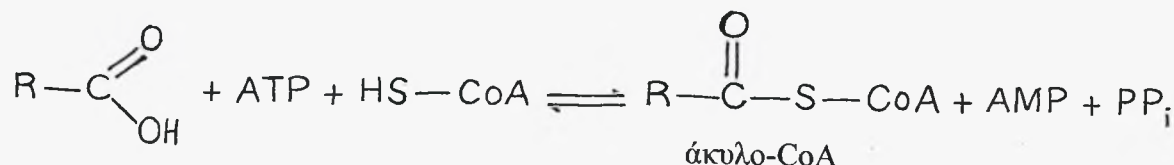
Όπως είδαμε και στην αρχή, τα λιπίδια που έχουν υποστεί υπεροξειδωση γίνονται περισσότερο πολικά και ανέρχονται στην επιφάνεια της λιπιδιακής διπλοστιβάδας της πλασματικής μεμβράνης. Εκεί, η φωσφολιπάση A<sub>2</sub> (PLase A<sub>2</sub>) ενεργοποιείται παρουσία ιόντων Ca<sup>++</sup> στο μεσοκυττάριο υγρό και κόβει τον εσωτερικό δεσμό C-O-C που ενώνει το οξειδωμένο λιπίδιο με το άλλο φυσιολογικό λιπίδιο (native lipid). Έπειτα η γλουταθειόνη (GSH) με τη βοήθεια της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GSH-Px), ανάγει το υπεροξείδιο R-O-O-H σε αδρανή πλέον αλκοόλη -OH (Fatty Acid -OH, FAOH). Το υδροξυλιωμένο λιπαρό οξύ ακολούθως παρουσία ATP και συνενζύμου A επανακυλιώνεται (reacylation reaction) για να σχηματίσει το άκυλο-συνένζυμο A (Fatty-Acyl-Coenzyme A, FA-CoA). Το άκυλο-CoA είναι το ενεργοποιημένο μόριο του επιδιορθωμένου λιπαρού οξέος το οποίο είναι πλέον σε θέση να επανεστεροποιηθεί με το διπλανό λιπαρό οξύ από το οποίο απεκόπηκε υδρολυτικά από την φωσφολιπάση. Έτσι ολοκληρώνεται η επιδιόρθωση της βλάβης της λιπιδιακής διπλοστιβάδας (lipid bilayer) που προσβλήθηκε από ROS. Ο μηχανισμός απεικονίζεται στο σχήμα 20:



Εικόνα 20 .Μοντέλο επιδιόρθωσης της πλασματικής μεμβράνης με υπεροξειδία Λιπιδίων .



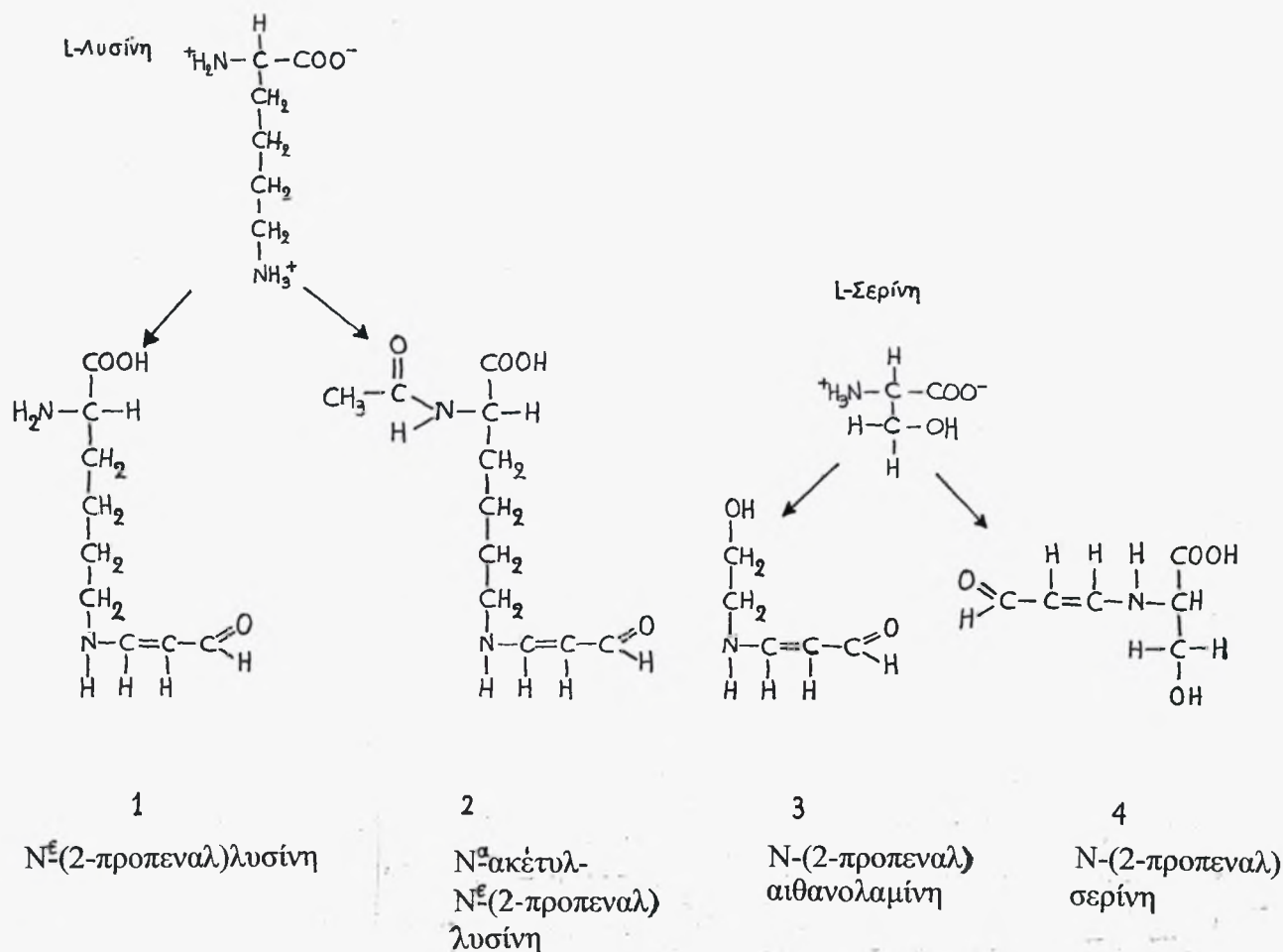
Η δε αντίδραση επανακυλίωσης του επιδιορθωμένου λιπαρού οξέος, φαίνεται στην παρακάτω εικόνα :



Εικόνα 21 .Η αντίδραση επανακυλίωσης.

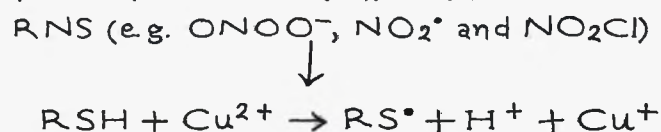
### Καταστροφή των πρωτεϊνών από το οξειδωτικό stress

Η τοξική αλδεΐδη MDA που όπως είδαμε παράγεται από την λιπιδιακή υπεροξειδη, "επιτίθεται" σε κατάλοιπα αμινοξέων πρωτεϊνών και τις τροποποιεί .Μερικά τροποποιημένα παράγωγα αμινοξέων μπορούν να ανιχνευτούν στα ούρα ατόμων που έχουν υποστεί οξειδωτικό stress (MDA-modified proteins) .



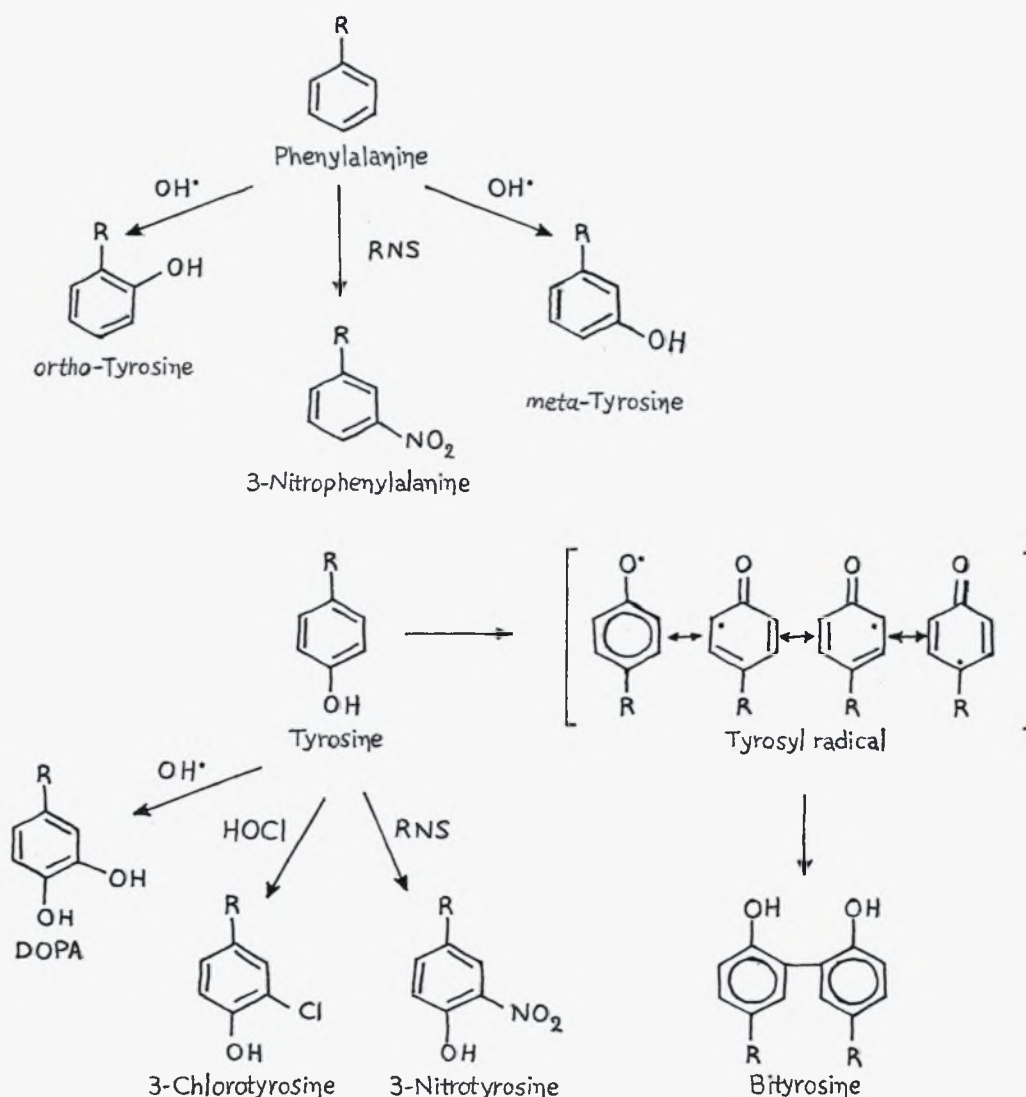
Εικόνα 22 .MDA-τροποποιημένα παράγωγα καταλοίπων λυσίνης και σερίνης που ανιχνεύονται στα ούρα .Το παράγωγο αιθανολαμίνης ,προκύπτει από την αποκαρβοξυλίωση της σερίνης .

Οι ελεύθερες σουλφυδρυλομάδες διαφόρων πρωτεϊνών δέχονται εύκολα "επίθεση" από διάφορες ρίζες οξυγόνου (ROS) αλλά και αζώτου (RNS) και οξειδώνονται, μετατρέπόμενες ακολούθως και οι ίδιες σε ρίζες. Η αντίδραση αυτή ευνοείται παρουσία μεταβατικών μετάλλων όπως ο χαλκός (εικόνα 23) :



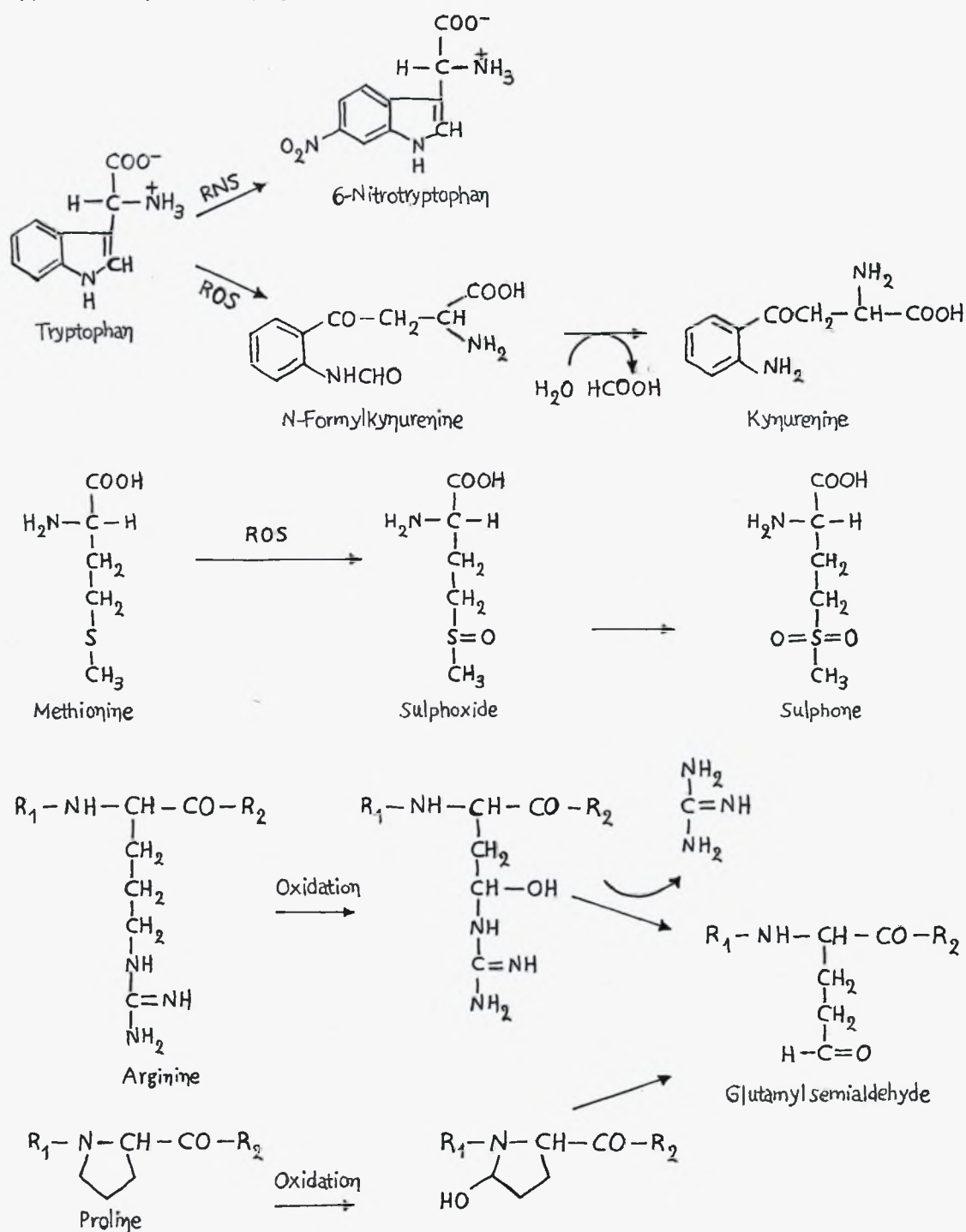
Εικόνα 23 .Η συμμετοχή του χαλκού στην στην οξειδωτική βλάβη των πρωτεϊνών .

RNS προσβάλλουν την τυροσίνη και την φαινυλαλανίνη ,νιτροσυλιώνοντάς τις. Επίσης η τυροσίνη υπό την επίδραση ROS ,σχηματίζει διμερή (bityrosine) και υπό την επίδραση υποχλωριώδους οξέος HOCl σχηματίζει 3-χλωροτυροσίνη .Μάλιστα η τυροσίνη όταν προσβληθεί από ρίζα υδροξυλίου OH<sup>•</sup> μπορεί να δημιουργήσει DOPA (εικόνα 24) το οποίο in vivo μεταβολίζεται σε ντοπαμίνη που διεγείρει το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα ,προκαλώντας νευρολογικές διαταραχές .



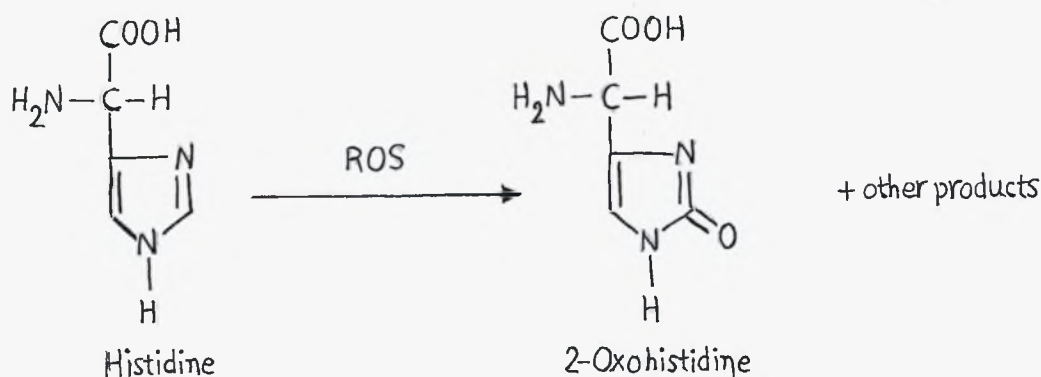
Εικόνα 24 .Παράγωγα οξείδωσης αρωματικών αμινοξέων .

Η τρυπτοφάνη ,παρουσία ROS οξειδώνεται πρώτα σε N-φορμυλοκυνουρενίνη κι έπειτα σε κυνουρενίνη ενώ παρουσία RNS νιτροσουλώνεται σε 6-νιτροτρυπτοφάνη .Η προλίνη και η αργινίνη ,οξειδώνονται από ROS σε γλουτάμυλο-ημιαλδεύδη (εικόνα 25) ,ενώ η μεθειονίνη σε σουλφοξείδιο κι έπειτα σε σουλφόνη .



Εικόνα 25 .Οξειδωτική βλάβη ορισμένων αμινοξέων .

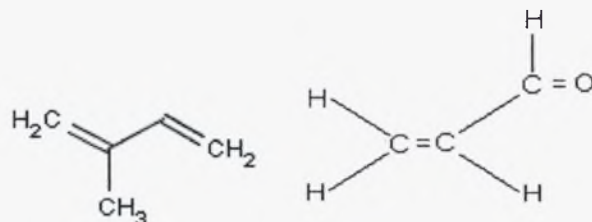
Η ιστοιδίνη, παρουσία ROS οξειδώνεται κυρίως σε 2-οξοϊστοιδίνη (εικόνα 26) :



Εικόνα 26 .Η οξείδωση της ιστιδίνης .

Ας αναφερθεί ότι η προλίνη δομικά είναι μεγάλης σημασίας για την διαμόρφωση της α-έλικας των διαφόρων διαμεμβρανικών πρωτεϊνών του κυττάρου κι έτσι οι ROS επηρεάζουν τους τόσο σημαντικούς για τη λειτουργία της καρδιάς και των νεφρών ιοντικούς διαύλους και πρωτεΐνες-μεταφορείς.

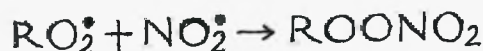
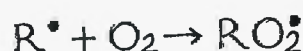
Αξιοσημείωτο είναι πως από το κάπνισμα ,παράγονται ROS που οξειδώνουν το κατάλοιπο μεθειονίνης 358 της α1-αντιθρυψίνης η οποία ως γνωστό αποτελεί αναστολέα της πρωτεάσης ελαστάση .Η οξειδωτική βλάβη αυτού του ενζύμου- αναστολέα ,έχει σαν αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη πρωτεολυτική δράση της ελαστάσης επί των κυψελίδων του πνεύμονα κι έτσι την καταστροφή τους ,κάτι που συντελεί στην εκδήλωση εμφυσήματος . Ποιός είναι όμως ο μηχανισμός με τον οποίο παράγονται ελεύθερες ρίζες κατά το κάπνισμα ; Το τσιγάρο ,εκτός από καρκινογόνους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs) που περιέχει όπως το βενζοπυρένιο και το βενζανθρακένιο που συνδέονται στο DNA και προκαλούν μεταλλάξεις ,περιλαμβάνει στα αέρια συστατικά του ακόρεστους υδρογονάνθρακες σαν το ισοπρένιο (εικόνα 27α), ακόρεστες αλδεϋδες σαν την ακρολεΐνη ή προπενάλη (εικόνα 27β) .



Εικόνα 27α .Δομή του ισοπρενίου και β .της ακρολεΐνης .

Ελεύθερες ρίζες αζώτου που επίσης περιέχονται στον καπνό όπως η  $\text{NO}_2^\bullet$ , αντιδρούν με οργανικά κυτταρικά μόρια μετατρέποντάς τα σε ρίζες R· οι οποίες ακολούθως αντιδρούν με οξυγόνο και σχηματίζουν ρίζα υπεροξειδίου  $\text{ROO}^\bullet$ . Οι ήδη σχηματισμένες ρίζες  $\text{ROO}^\bullet$  αντιδρούν με τη σειρά τους με την  $\text{NO}_2^\bullet$  ή με ένα άλλο RNS συστατικό του καπνού τη ρίζα  $\text{NO}^\bullet$  σχηματίζοντας τα νιτροσυλιωμένα οργανικά παράγωγα,  $\text{ROONO}_2$  και  $\text{ROONO}$  αντίστοιχα. Η  $\text{NO}^\bullet$  μπορεί να αντιδράσει επίσης με την ρίζα υπεροξειδίου  $\text{O}_2^{\bullet -}$  δίνοντας το τοξικό υπεροξυνιτρίλιο  $\text{ONOO}^-$  ενώ η

$\text{NO}_2^\bullet$  μπορεί και αντιδρά με την ακρολεΐνη δίνοντας άλλη μία ρίζα. Βλέπουμε δηλ. πως οι ρίζες αζώτου στον καπνό είτε αντιδρούν με διαφορετικά συστατικά του καπνού είτε με κυτταρικά συστατικά ή με ROS που οι ίδιες δημιούργησαν για να δώσουν ξανά ρίζες αλλά και να τροποποιήσουν τα οργανικά μόρια. Ας σημειωθεί ότι διάφορα νιτρικά προστίθενται στον καπνό ώστε να αυξήσουν την ικανότητά του προς καύση και αποτελούν την κύρια πηγή RNS. Οι αντιδράσεις είναι συνολικά οι εξής:



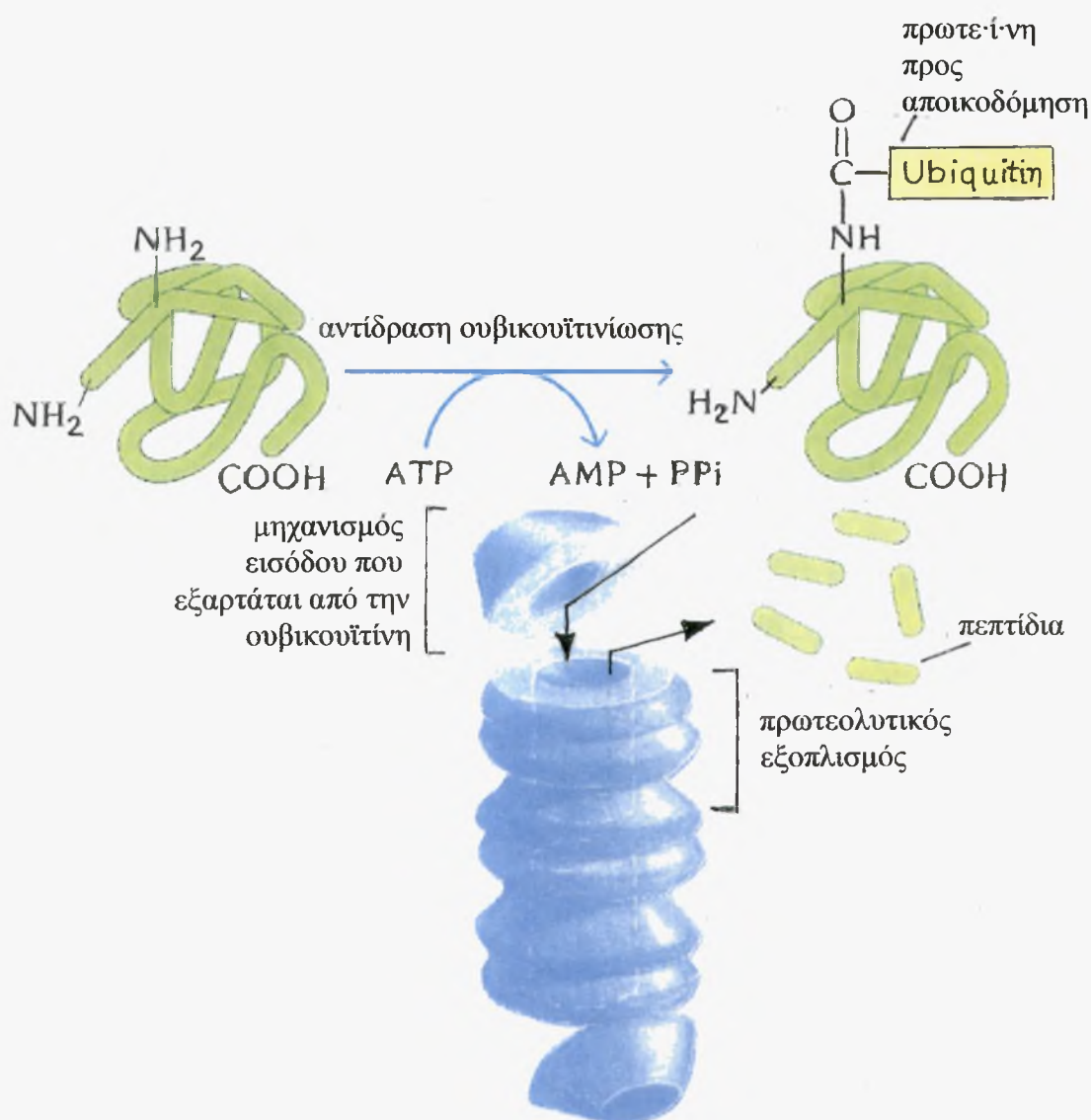
Εικόνα 28. Οι αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών που λαμβάνουν χώρα κατά το κάπνισμα.

Ένα άλλο σημαντικό γεγονός, είναι η μείωση της δραστηριότητας της GSH αφού οι αλδεΐδες του καπνού ακρολεΐνη, ακεταλδεΐδη και φορμαλδεΐδη ενώνονται ομοιοπολικά με τις  $-\text{SH}$  και  $\text{NH}_2$  ομάδες του μορίου της και τις τροποποιούν. Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η ικανότητα του οργανισμού να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό stress παίρνει ακόμη μεγαλύτερες διαστάσεις. Επιπλέον, τα σωματίδια του καπνού (πίσσα, νικέλιο, κάδμιο κ.ά) διεγείρουν και στρατολογούν στις κυψελίδες των πνευμόνων τα μακροφάγα τα οποία εκκρίνουν είτε άμεσα ρίζες όπως  $\text{O}_2^{\bullet -}$  και  $\text{NO}^\bullet$  είτε ενώσεις που μπορούν να μευατραπούν σε ρίζες όπως το υποχλωριώδες οξύ  $\text{HOCl}$  και το υπεροξείδιο του υδρογόνου  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Είναι χαρακτηριστικό ότι ενώ στους μη καπνιστές υπάρχουν ~50-70 μακροφάγα ανά κυψελίδα, στους καπνιστές ο αριθμός αυτός 5πλασιάζεται και μπορεί να φτάσει τα 700 μακροφάγα ανά κυψελίδα! Τα μακροφάγα και λόγω της ελαστάσης που απελευθερώνουν προκαλούν εκτεταμένες ιστικές βλάβες στον αναπνευστικό σωλήνα ενώ ο καπνιστής λόγω της χρόνιας φλεγμονής που δημιουργείται, διατρέχει υψηλό κίνδυνο εμφάνισης Χρόνιας Αποφρακτικής Πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ). Φυσικά, εγκυμονεί και ο κίνδυνος της αθηροσκλήρωσης καθώς η LDL χοληστερόλη οξειδώνεται σε μεγάλο βαθμό.



Τέλος ,χαρακτηριστικά ας αναφερθεί ότι στο πλάσμα και τα ούρα των χρόνιων καπνιστών ανιχνεύονται υψηλές συγκεντρώσεις οξειδωμένων παραγώγων του DNA σαν την 8-υδροξυ-γουανίνη αλλά και ισοπροστανών που αποτελούν τους κατεξοχήν βιολογικούς δείκτες οξειδωτικού stress .

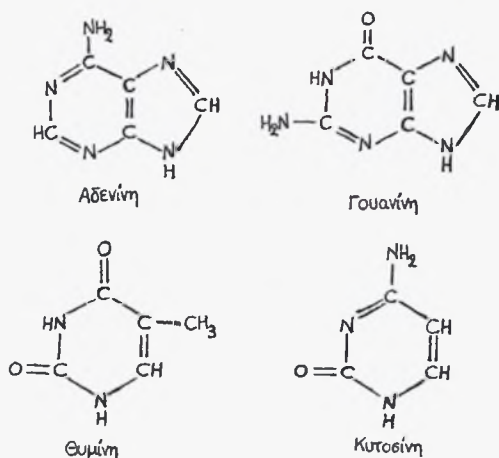
Οι κατεστραμμένες από τις ROS πρωτεΐνες ,συνδέονται μέσω της ε-αμινομάδας ενός καταλοίπου λυσίνης με την ουβικουΐτίνη ,ένα μικρό πεπτίδιο από την λιγάση E1 με κατανάλωση ATP . Η σήμανση αυτή ως γνωστόν ,τις οδηγεί στα πρωτεασώματα, πρωτεϊνικά σύμπλοκα που μοιάζουν με κυλινδρικούς κάδους με 2 πόματα όπου πρωτεάσες στην εσωτερική επιφάνεια των τοιχωμάτων τους ,τις αποικοδομούν (εικόνα 29) .Η ουβικουΐτίνη ,σχηματίζει πεπτιδικό δεσμό με την πρωτεΐνη που προορίζεται για αποικοδόμηση μέσω της καρβοξυλομάδας της .



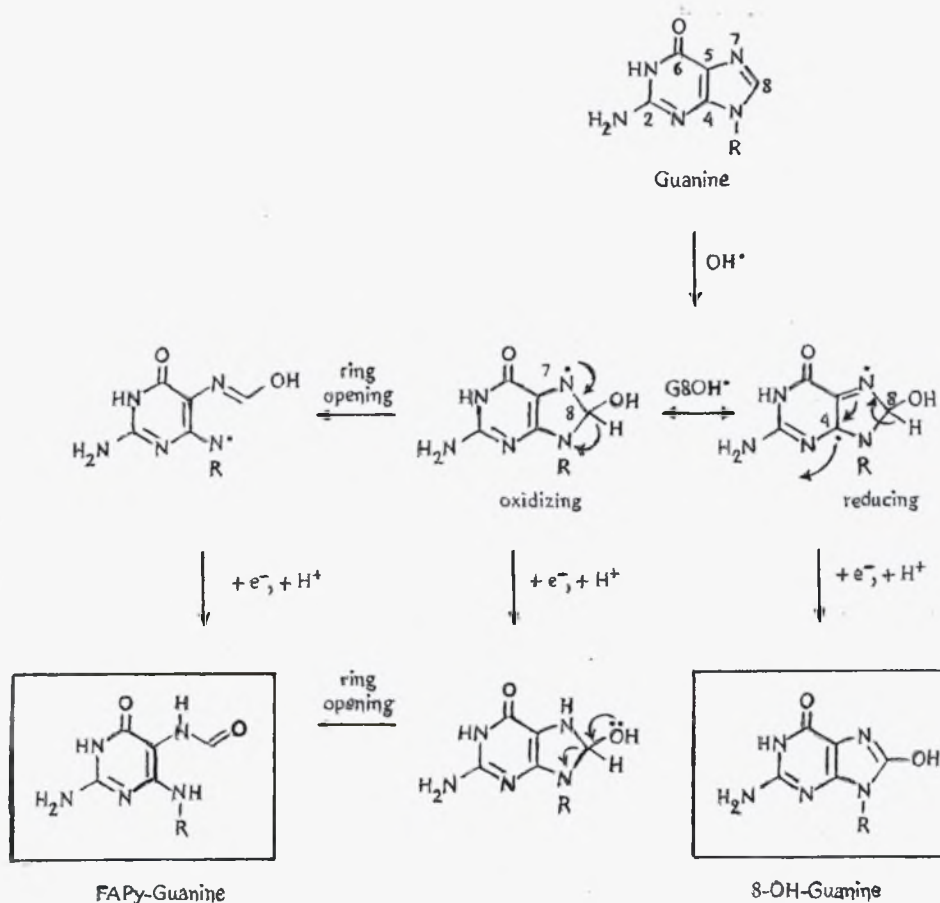
Εικόνα 29 .Η ουβικουΐτινίωση των κατεστραμμένων πρωτεϊνών και η αποικοδόμησή τους

## Βλάβες στο DNA από τις ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες "επιτίθενται" στο DNA και προκαλούν τροποποιήσεις στις βάσεις του, οι οποίες παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα 32) σε αντιπαραβολή με τις φυσιολογικές, μη προσβεβλημένες από ROS αζωτούχες βάσεις (εικόνα 30) :

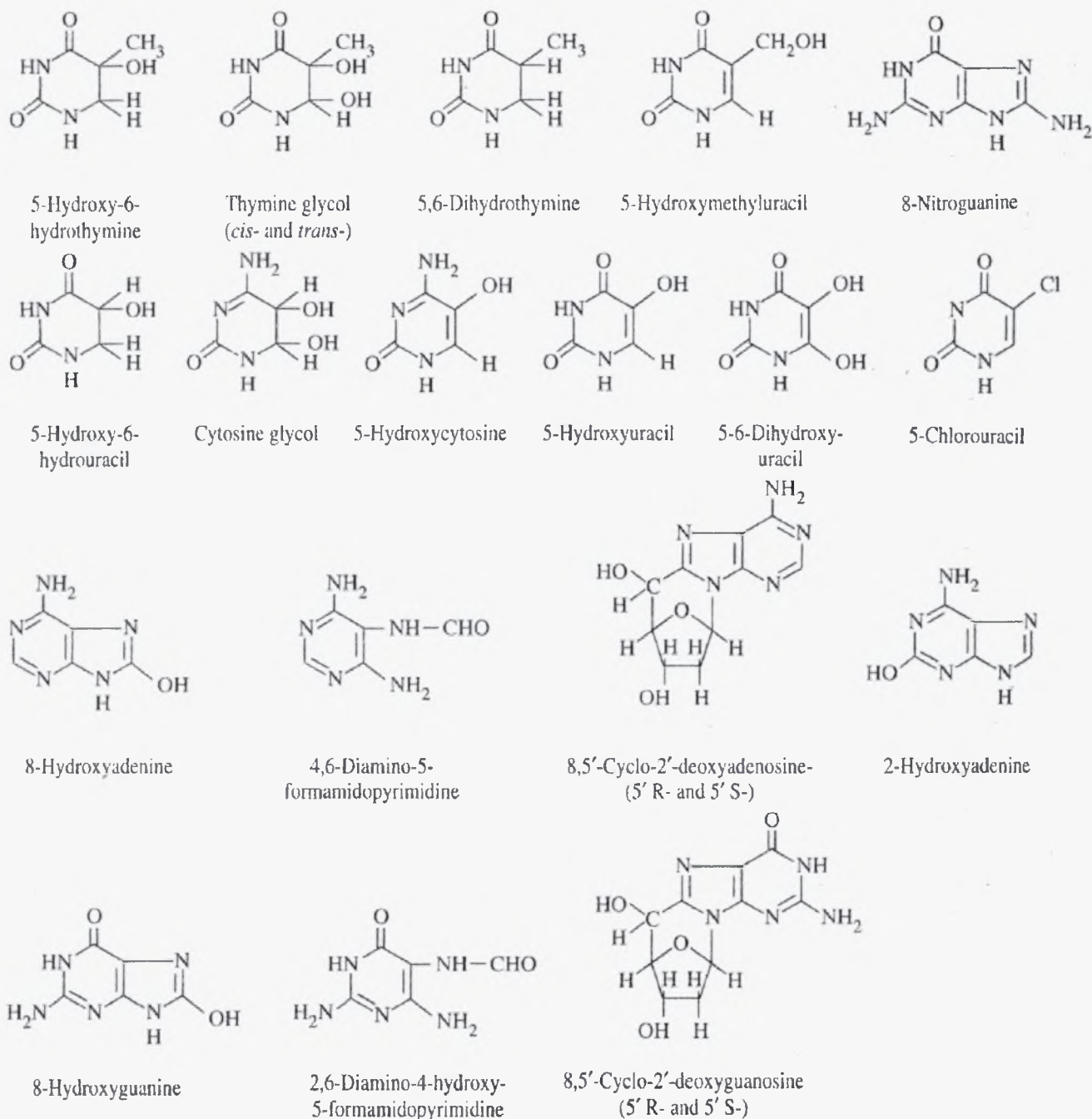


Εικόνα 30 .Οι φυσιολογικές αζωτούχες βάσεις του DNA .  
Για παράδειγμα ,η γουανίνη όταν προσβάλλεται την από ρίζα υδροξυλίου  $\text{OH}^\bullet$ ,



Εικόνα 31 .Παράγωγα της γουανίνης λόγω προσβολής από ROS .

υδροξυλιώνεται στον άνθρακα C8 σε ρίζα 8-υδροξυγουανίνης .Η ρίζα αυτή ,μπορεί να αναχθεί σε 8-OH-γουανίνη ή χάνοντας ένα ηλεκτρόνιο ,ο δακτύλιός της να υποστεί οξειδωτική διάσπαση και να ανοίξει σχηματίζοντας 2,6-διάμινο-4-υδροξυ-5-φορμαμιδοπυριδίνη (FAPy-Guanine ,εικόνα 31) .Επίσης ,από την προσβολή των ROS και RNS ,προκύπτουν πολλές άλλες τροποποιήσεις σε όλες τις βάσεις του DNA (εικόνα 32) καθώς και απώλεια της αδενίνης σε διάφορες θέσεις του (αποπουρίνωση).



Εικόνα 32 .Τροποποιημένες από ROS και RNS βάσεις του DNA .



### Μεταγραφική απόκριση στο οξειδωτικό stress

Σε απειλητικές για το οργανισμό καταστάσεις, όπως είναι η οξεία φλεγμονή, ο τραυματισμός, το έγκαυμα, το έμφραγμα του μυοκαρδίου αλλά και το οξειδωτικό stress, παρατηρούνται χαρακτηριστικές μεταβολές στη συγκέντρωση των λεγόμενων πρωτεϊνών οξείας φάσης του πλάσματος. Έτσι, η συγκέντρωση της α1-αντιθρυψίνης που είναι όπως προαναφέρθηκε αναστολέας πρωτεασών, της απτοσφαιρίνης που είναι μία α2-σφαιρίνη που δεσμεύει την αιμοσφαιρίνη όταν αυτή απελευθερώνεται κατά την αιμόλυση (απόρριψη μοσχεύματος, φαρμακοεπαγόμενη αιμόλυση), της κερουλοπλασμίνης μίας πρωτεΐνης που μεταφέρει χαλκό καθώς και της C3 συνιστώσας του συμπληρώματος, αυξάνεται κατακόρυφα. Και αυτό γιατί ο οργανισμός όταν είναι εκτεθειμένος σε έναν στρεσογόνο παράγοντα σαν τις ελεύθερες ρίζες πρέπει να προσπαθήσει να αποφύγει τυχόν αποικοδόμηση του συνδετικού ιστού, να συλλέξει την ελεύθερη αιμοσφαιρίνη για να μην προκληθεί ίκτερος να δεσμεύσει τον χαλκό καθώς εκτός της συμμετοχής του στην δημιουργία ριζών, είναι πολύ τοξικός ιδιαίτερα για τα βασικά γάγγλια του εγκεφάλου που ρυθμίζουν τις εκούσιες κινήσεις και να αμυνθεί κατά του παθογόνου μικροοργανισμού-εισβολέα αντίστοιχα, αναλόγως την περίπτωση κάθε φορά. Ας αναφερθεί πως τα μεγάλα ποσά  $\text{Fe}^{++}$  που απελευθερώνονται στην αιμόλυση, συμβάλλουν στον σχηματισμό ROS μέσω της αντίδρασης Fenton αλλά και οι βακτηριακές με τις ιογενείς λοιμώξεις με την κινητοποίηση των λευκοκυττάρων που επάγουν τα οποία εκκρίνουν  $\text{HOCl}$  και  $\text{H}_2\text{O}_2$  ενισχύουν το οξειδωτικό stress.

Εκτός από την παραπάνω κινητοποίηση η οποία αναφέρεται ως "απόκριση οξείας φάσης" (acute phase response), το οξειδωτικό stress επάγει την μεταγραφή των πρωτεϊνών θερμικού σοκ (heat-shock proteins) όπως των hsp70, hsp27, hsp32 και hsp90. Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών αυτών αυξάνεται και κατά την φλεγμονή. Η hsp90 σχηματίζει ένα διμερές που συνδέεται στο κυτοσόλιο με τους πυρηνικούς υποδοχείς λιπόφιλων ορμονών όπως η κορτιζόλη, οι στεροειδείς ορμόνες του φύλου και οι θυρεοειδικές ορμόνες T3 και T4 διατηρώντας ακέραια την πτύχωσή τους πριν αυτοί ενωθούν με το μόριο-προσδέτη. Μάλιστα η hsp70 δρα ως σιαπερονίνη (chaperone) ή πρωτεΐνη-συνοδός. Οι σιαπερονίνες, συνδέονται με νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες και με υδρόλυση ATP, τις βοηθούν να πάπουν την κατάλληλη τεταρτοταγή διαμόρφωση. Μία ειδική μορφή της hsp70 η BiP, βοηθά στην πτύχωση των πρωτεϊνών οι οποίες συντίθενται στα ριβοσώματα που βρίσκονται στις μεμβράνες του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου.

Έτσι, φαίνεται ότι η υπερέκφραση αυτών των σιαπερονινών κατά την διάρκεια του οξειδωτικού stress, συντελεί στην αποφυγή της συσσώρευσης λάθως-πτυχωμένων πρωτεϊνών λόγω προσβολής τους από ROS και υποστηρίζει την επαναπτύχωση εάν η βλάβη είναι είναι φυσικά αναστρέψιμη και επιδιορθώσιμη. Οι πρωτεΐνες όμως που έχουν υποστεί εκτεταμένη, ανεπανόρθωτη βλάβη, οδηγούνται στα πρωτεασώματα για αποικοδόμηση αφού πρώτα ουβικουϊτινωθούν.

Άλλες πρωτεΐνες που παράγονται σε απόκριση στο οξειδωτικό stress είναι οι μεταλλοθειονίνες οι οποίες δεσμεύουν βαρέα μέταλλα που συμβάλλουν και αυτά στην δημιουργία ROS.

Κατά την διάρκεια του οξειδωτικού stress, εκκρίνονται διάφορες κυτοκίνες όπως ο  $\text{TNF-}\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ) και η IL-1 με την IL-8 οι οποίες διεγείρουν τον παράγοντα μεταγραφής NFkB ώστε αυτός να αποδεσμευτεί από την ανασταλτική πρωτεΐνη IkB (Inhibitory-Kb) και να μετατοπισθεί στον πυρήνα (nuclear translocation) για να επάγει την μεταγραφή γονιδίων σχετικών τόσο με το οξειδωτικό stress όσο και με τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Άλλωστε, η προσθήκη  $\text{H}_2\text{O}_2$

και HOCl στο θεραπευτικό μέσο αρκετών κυτταρικών σειρών όπως T-lymphoma line και HeLa ,είχε ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του NFκB .Όταν προκαλείται οξειδωτικό stress μέσω  $H_2O_2$ , UV ή γ ακτινοβολίας ,προάγεται και η ενεργοποίηση του AP-1 μεταγραφικού παράγοντα (Activating Protein-1) ,ο οποίος επάγει την μεταγραφή των ογκογονιδίων c-jun και c-fos .

Φυτικές φαινολικές ενώσεις που θεωρούνται χημειοπροφυλακτικές και προστατεύουν από την καρκινογένεση και το οξειδωτικό stress όπως το καφεϊκό οξύ αλλά και μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα όπως η ασπιρίνη ,εμποδίζουν την ενεργοποίηση του NFκβ .

Λειτουργίες ζωτικής σημασίας σαν την κυτταρική αναπνοή και την επιδιόρθωση των βλαβών του DNA ,επηρεάζονται άμεσα από το οξειδωτικό stress .Η μιτοχονδριακή DNA πολυμεράση δεν διαθέτει 3'→5' εξωνουκλεολυτική δραστηριότητα όπως η DNA πολυμεράση που αντιγράφει το πυρηνικό DNA ,κι έτσι το μιτοχονδριακό γενετικό υλικό έχει υψηλότερο ρυθμό μεταλλαξιγένεσης (εξελικτικό ρυθμό) αλλά και είναι περισσότερο επιρρεπές σε βλάβες που προκαλούν οι ROS. Μάλιστα έχει βρεθεί ότι ο παράγοντας GA-BP ή πυρηνικός αναπνευστικός παράγοντας 2 (GA Binding Protein ή nuclear respiratory factor 2) που είναι υπεύθυνος για την μεταγραφή της IV και Vb υπομονάδας της κυτοχρωμικής οξειδάσης του μιτοχονδρίου ,υφίσταται οξείδωση των ελεύθερων -SH σουλφυδρυλομάδων του όταν εκτίθεται σε ROS ,με συνέπεια τη δραστική μείωση της δραστηριότητάς του .

### Ελεύθερες ρίζες και παθογένεση

Δεν είναι υπερβολή να ειπωθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται σχεδόν σε κάθε είδους ασθένεια ,αν όχι ως η πρωτογενής αιτία ως δευτερογενής επιλοκή. Οπουδήποτε υπάρχει κυτταρική βλάβη η πλασματική μεμβράνη είναι από τις πρώτες κυτταρικές δομές που πλήττονται και η ρήξη της είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την λιπιδιακή υπεροξείδωση και την παραγωγή ROS .Επιπλέον η φλεγμονή πάντοτε προκαλεί την παραγωγή ελευθέρων ριζών αφού τα φαγοκύτταρα ενεργοποιούμενα από την Fc περιοχή των αντισωμάτων ή το συμπλήρωμα μέσω των αντίστοιχων υποδοχέων ,στρατολογούν το διαμεμβρανικό σύμπλοκο της NADPH-οξειδάσης που ανάγει μονοηλεκτρικά το οξυγόνο σε ρίζα  $O_2^{\cdot -}$  ώστε να εξοντωθεί το βακτήριο που φαγοκυτταρώνεται .

Παρακάτω ,αναφέρονται ορισμένες ασθένειες που σχετίζονται με οξειδωτικό stress ενδεικτικά ,καθώς ο αριθμός των ασθενειών στις οποίες εμπλέκονται οι ROS είναι πραγματικά τεράστιος :

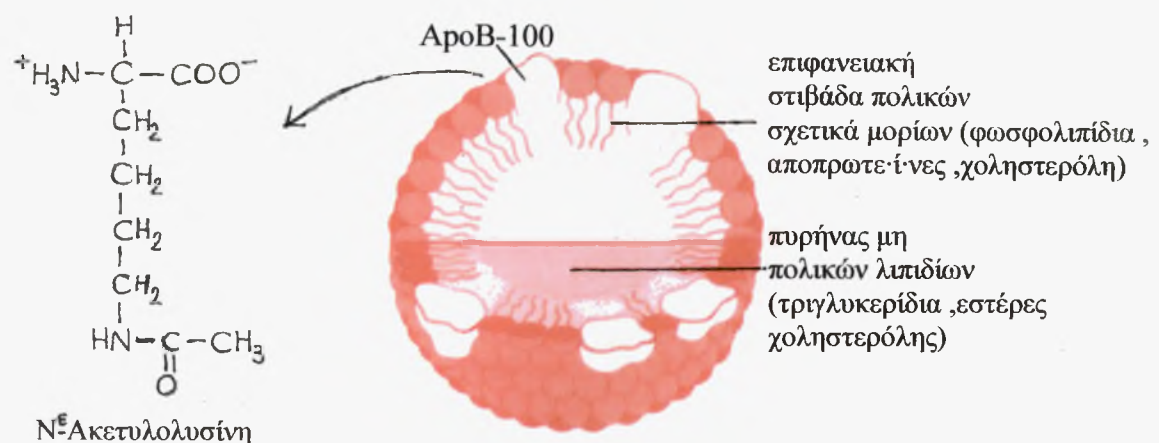
#### • Αθηροσκλήρωση

Τα μακροφάγα που κυκλοφορούν στα αρτηριακά αγγεία ,διαθέτουν LDL υποδοχείς για να προσλαμβάνουν ενδοκυτταρικά τις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας .Όταν επέρχεται κορεσμός τους με εστέρες χοληστερόλης που βρίσκονται σε αφθονία στον πυρήνα της LDL ,μετατρέπονται σε "αφρώδη" κύτταρα (foam cells) όπως χαρακτηριστικά αποκαλούνται ,τα οποία και είναι τα βασικά συστατικά της



αθηρωματικής πλάκας .Τα μακροφάγα όμως εκτός από τους κλασικούς υποδοχείς , διαθέτουν και ένα είδος διαφορετικών LDL υποδοχέων οι οποίοι κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο αλλά προκύπτουν μέσω μηχανισμού εναλλακτικού ματίσματος (alternative splicing) .Ο υποδοχέας αυτός ,γνωστός και ως "scavenger receptor", διαθέτει χημική συγγένεια για την LDL λιποπρωτεΐνη που έχει οξειδωθεί ιδίως μέσω ακετυλίωσης καταλοίπων λυσίνης της apoB-100 αποπρωτεΐνης της επιφάνειας του σωματιδίου της ,γι' αυτό και ονομάζεται και ακέτυλο-LDL υποδοχέας .

Επίσης ,ομοιοπολική σύνδεση της τοξικής αλδεϋδης HNE σε κατάλοιπα λυσίνης ή ιστιδίνης της ApoB100 ,συντελεί στην αναγνώριση από scavenger υποδοχείς υψηλής αγγιστείας οπότε και επιταχύνεται η δημιουργία των αφοκυττάρων και της αθηρωματικής πλάκας .Επιπλέον μέσω ενός αυτοενισχυόμενου μηχανισμού παθογένεσης , τα ίδια τα μακροφάγα οξειδώνουν την LDL διευκολύνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την αναγνώριση και την πρόσληψή της .Μάλιστα ,ύστερα από επώαση της LDL με εκχύλισμα από καπνό τσιγάρου ,αυτή υπέστη οξειδωτική τροποποίηση σε κατάλοιπα λυσίνης (εικόνα 33) με αποτέλεσμα να γίνει λιγότερο θετική στο φορτίο και να αυξηθεί η ηλεκτροφορητική της κινητικότητα σε σχέση με την LDL-μάρτυρα που δεν επώαστηκε .Αυτό ενισχύει την άποψη ότι οι ROS που παράγονται από το κάπνισμα αυξάνουν τις πιθανότητες αθηροσκλήρωσης .



Εικόνα 33 .Οξειδωμένο κατάλοιπο λυσίνης της ApoB100 απολιπρωτεΐνης του σωματιδίου της LDL χοληστερόλης .

Διαδονιδιακά ποντίκια knock-out για το γονίδιο του LDL υποδοχέα είναι λιγότερο επιρρεπή στον σχηματισμό αθηροσκληρωτικής πλάκας και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην προσβολή από το βακτήριο *Listeria monocytogenes* και από ερπητοϊούς ,κάτι που υποδεικνύει πως ειδικά οι scavengers υποδοχείς οι οποίοι σχετίζονται με την πρόσληψη ROS-τροποποιημένων προσδεμάτων ,εμπλέκονται στην παθογένεση πολλών άλλων νόσων .

#### • Ρευματοειδής Αρθρίτιδα

Όλες οι χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις που έχουν μάλιστα αυτοάνοσο χαρακτήρα όπως αυτή της ρευματοειδούς αρθρίτιδας ,σχετίζονται με υπεραντιδραστικότητα του ανοσολογικού μηχανισμού και απελευθέρωση ROS από τα κοκκιοκύτταρα .

- Κυστική ίνωση

Από μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε ασθενείς που πάσχουν από CF, αποδείχθηκε πως τα επίπεδα υπεροξειδίων λιπιδίων στο πλάσμα του αίματός τους είναι αυξημένα ενώ η συγκέντρωση των καροτενοειδών που έχουν την ιδιότητα να "παγιδεύουν" τις ελεύθερες ρίζες (free radical scavengers) όπως το β-καροτένιο και το λυκοπένιο ενός καροτενοειδούς της ντομάτας (*Lycopersicum esculentum*) ,είναι μειωμένα (~0,04  $\mu\text{M}$  αντί του φυσιολογικού 0,2  $\mu\text{M}$ ) .Αυτό δεν σχετίζεται με την εξωγενή πρόσληψη των συγκεκριμένων καροτενοειδών μέσω της διατροφής αλλά με την *in vivo* εξάντλησή τους λόγω της αντίδρασής τους με τις ROS/RNS .Επίσης, ανιχνεύθηκαν υψηλά επίπεδα TNF- $\alpha$  ,μακροφάγων ,ουδετερόφιλων και ελεύθερου μη συνδεδεμένου με τρανσφερίνη  $\text{Fe}^{++}$  ,ο οποίος μπορεί μέσω της αντίδρασης Fenton να συντελέσει στην παραγωγή ROS από το εκκρινόμενο  $\text{H}_2\text{O}_2$  των λευκοκυττάρων.

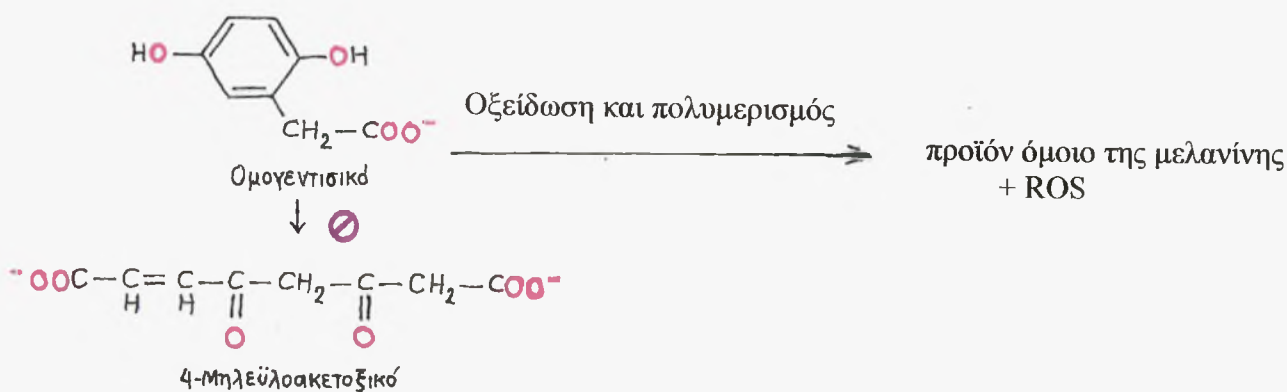
- Νόσος Alzheimer

Η νόσος Alzheimer (Alzheimer Disease) είναι μια νευροεκφυλιστική ασθένεια που οδηγεί τους νευρώνες σε απόπτωση λόγω της συσσώρευσης τοξικών πλακών β-αμυλοειδών .

Οι πλάκες αυτές εκτός από την απόπτωση των νευρώνων ,εγείρουν στον εγκέφαλο και φλεγμονώδη αντίδραση στην οποία στρατολογούνται τα αμυντικά κύτταρα της νευρογλοίας .Έτσι ,το προκαλούμενο οξειδωτικό stress από την υπερπαραγωγή  $\text{H}_2\text{O}_2$  ,  $\text{O}_2^{\bullet -}$  και  $\text{NO}^{\bullet}$  κατά την φλεγμονή ,είναι ένας επιπλέον τοξικός για τους νευρώνες παράγοντας .

- Αλκαπτονουρία

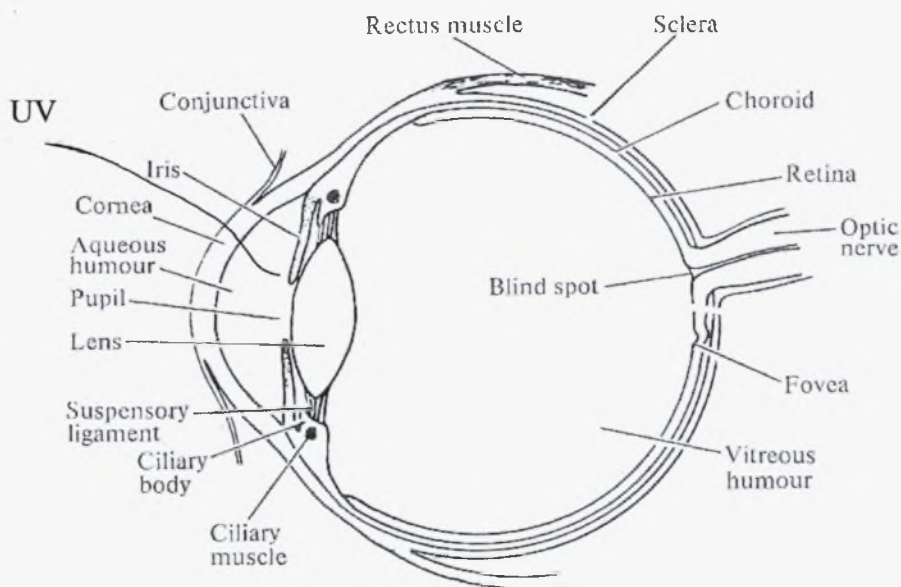
Η αλκαπτονουρία είναι μία γενετική νόσος κατά την οποία υπάρχει έλλειψη του



Εικόνα 34 .Η μη φυσιολογική οξείδωση του ομογεντισικού ελλείπει της αντίστοιχης οξειδάσης

ενζύμου της οξειδάσης του ομογεντισικού οξέος. Το ομογεντισικό οξύ αποτελεί προϊόν αποικοδόμησης της τυροσίνης και της φαινυλαλανίνης. Η οξειδάση του ομογεντισικού οξειδώνει το αντίστοιχο οξύ σε 4-μυλεϋλοακετοξικό από το οποίο στην συνέχεια σχηματίζεται ακετοξικό και φουμαρικό που μπορεί να εισέλθει στον κύκλο του κιτρικού οξέος για παραγωγή ενέργειας. Απουσία όμως της οξειδάσης το ομογεντισικό συσσωρεύεται στον οργανισμό, αυτοοξειδώνεται και πολυμερίζεται σε μία ένωση όμοια με την μελανίνη που προσδίδει στα ούρα στα οποία και απεκκρίνεται μαύρο χρωματισμό. Από αυτήν τη μη φυσιολογική οδό οξειδωσης του ομογεντισικού, παράγονται ελεύθερες ρίζες  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{OH}^{\bullet}$  αλλά και  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Οι ασθενείς εμφανίζουν επίσης χρωματισμό του συνδετικού ιστού και του χόνδρου με επακόλουθες τροποποιήσεις και αλλοιώσεις της επιφάνειας των κυττάρων, γεγονός που εγείρει ανοσολογική αντίδραση και προκαλεί αρθρίτιδα. Μέσω της φλεγμονής όμως παράγονται επιπλέον ROS και η εκτεταμένη έτσι κυτταρική βλάβη, δημιουργεί ένα δυσάρεστο αίσθημα καύσου στα σπλάχνα.

- Προβλήματα όρασης



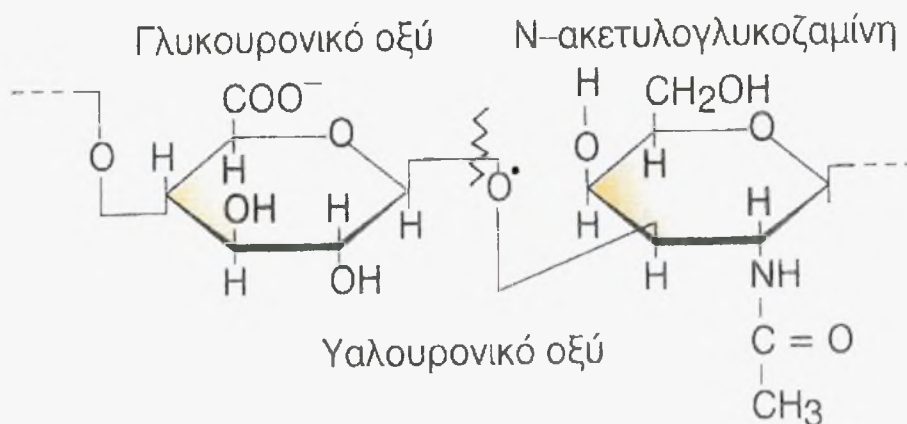
Εικόνα 35 .Η δομή του οφθαλμού .

Ο ανθρώπινος οφθαλμός (εικόνα 35) εκτίθεται συνεχώς στην υπεριώδη (Ultra violet) ακτινοβολία του ηλίου με συνέπεια να σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες  $\text{O}_2^{\bullet-}$  και  $\text{OH}^{\bullet}$  από το  $\text{H}_2\text{O}_2$  που φυσιολογικά βρίσκεται στον κρυσταλλοειδή φακό οι οποίες και αλλοιώνουν τα αμινοξέα των πρωτεϊνών του (π.χ σχηματίζονται διμερή τυροσίνης). Αυτές οι βλάβες μάλιστα συσσωρεύονται καθώς οι κύριες πρωτεΐνες του φακού οι κρυσταλλίνες διαθέτουν μεγάλο ρυθμό ανακύκλωσης (turn-over) ώστε να μπορέσει να γίνει η αντικατάστασή τους από νέες φυσιολογικές.

Στους οφθαλμούς των θηλαστικών, διακρίνονται 3 είδη από κρυσταλλίνες : οι α-, οι β- και οι γ-κρυσταλλίνες. Μάλιστα, μελέτες που πραγματοποιήθηκαν πρόσφατα,

αποδείχθηκε ότι η γ-κρυσταλλίνη δρα ως σιαπερονίνη, βοηθώντας παρακείμενες στον ιστό πρωτεΐνες που έχουν υποστεί βλάβη, να αποκτήσουν ξανά την φυσιολογική τους πύκνωση κι επιπλέον πως "παγιδεύει" τις ελεύθερες ρίζες (free radical scavenger) διαθέτοντας έτσι αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Ο κρυσταλλοειδής φακός που πρώτος υφίσταται την οξειδωτική βλάβη από την ακτινοβολία λόγω της θέσης του προστατεύει τον αμφιβληστροειδή χιτώνα ή μεμβράνη των ραβδίων του οποίου είναι επιρρεπής στην λιπιδιακή υπεροξείδωση και εκτεταμένη καταστροφή μπορεί να οδηγήσει ακόμα και στην τύφλωση.

Το υαλώδες σώμα (vitreous body ή humour), αποτελείται υαλουρονικό οξύ, ένα πολυμερές επαναλαμβανόμενων διμερών γλυκουρονικού οξέος και N-ακετυλο-γλυκοζαμίνης. Ο γλυκοζιτικός δεσμός που συγκρατεί τους δύο δακτυλίους υπό την επίδραση UV σπάει δημιουργώντας ελεύθερη ρίζα  $\text{O}_2^{\cdot-}$  που προκαλεί βλάβες ενώ το υαλουρονικό οξύ αποπολυμερίζεται με συνέπεια το ιξώδες του οφθαλμού να μειώνεται.



Εικόνα 36 .Η οξειδωτική διάσπαση του υαλουρονικού οξέος από την UV επάγει τον σχηματισμό ROS .

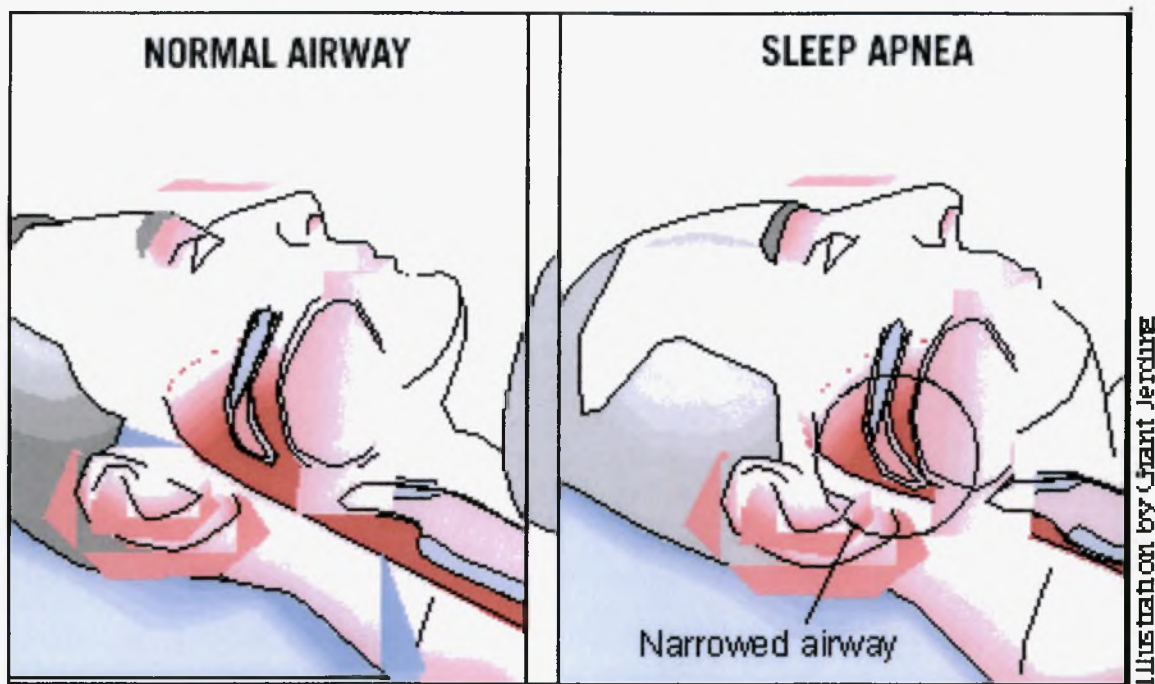
Σε σοβαρές περιπτώσεις αιμορραγίας η αίμη που απελευθερώνεται στον οφθαλμό με τον σίδηρο που περιέχει, συντελεί στον σχηματισμό ROS από  $\text{H}_2\text{O}_2$  προκαλώντας βλάβες σπάσιμο της έλικας του DNA και βλάβη της αντλίας  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  που έχουν σαν τελικό αποτέλεσμα την απώλεια της όρασης. Είναι αξιοσημείωτο πως ασθενείς με καταρράκτη, διαθέτουν στον φακό τους υψηλότερες ποσότητες  $\text{H}_2\text{O}_2$  (>30μM) απ'ότι τα άτομα με φυσιολογική όραση, κάτι που προκαλεί μείωση της διαύγειας του φακού κι επομένως θολή όραση.

#### • Βρογχικό άσθμα

Το βρογχικό άσθμα είναι μία μορφή χρόνιας φλεγμονής στην οποία τα στρατολογούμενα λευκοκύτταρα εκκρίνοντας  $\text{NO}^{\cdot}$  και  $\text{H}_2\text{O}_2$  προκαλούν οξειδωτικό stress και βλάβη στα επιθηλιακά κύτταρα των βρόγχων. Η απολέπιση του επιθηλίου αυτού, αποκαλύπτει υποκείμενες νευρικές απολήξεις με αποτέλεσμα την υπεραντιδραστικότητα των λείων μυών των αεραγωγών κάθε φορά που έρχονται σε επαφή με κάποιο ερέθισμα (αλλεργιογόνο, καπνός τσιγάρου) και την σύσπασή τους που δυσχεραίνει την αναπνοή.



Στο Σύνδρομο Άπνοιας κατά τον Ύπνο (ΣΑΥ) η κλινική περιγραφή του οποίου θα γίνει αμέσως παρακάτω ,λόγω ανατομικών κυρίως αιτίων (μικρή διάμετρος του φαρυγγικού αυλού ,φλεγμονώδης διόγκωση των αμυγδαλών ή της σταφυλής βλ.εικόνα 37Α) αλλά και Χρόνιας Αποφρακτικής Πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ) .Οπότε και η αντίστοιχη κάθε φορά θεραπεία είναι η χειρουργική επέμβαση ή η εφαρμογή μάσκας θετικής πίεσης (Continuous Positive Airway Pressure ,CPAP βλ. εικόνα 37Β) και η χορήγηση βρογχοδιασταλτικών /βλεννολυτικών φαρμάκων .



Εικόνα 37Α .Τα αίτια του ΣΑΥ είναι συνήθως ανατομικά .

Ο υποαερισμός όμως ,προκαλεί υποξαιμία χαμηλή δηλαδή  $pO_2$  στο αίμα η οποία με τη σειρά της επάγει τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών και το οξειδωτικό stress .

Ο μηχανισμός με τον οποίο συμβαίνει αυτό ,είναι ο εξής :

Δίχως επαρκείς ποσότητες οξυγόνου η οξειδωτική φωσφορυλίωση αναχαιτίζεται κι επομένως οι διαθέσιμες ποσότητες ATP στα κύτταρα ελαττώνονται αλλά και αποικοδομούνται αφού οι αναβολικές διεργασίες αναστέλλονται . Αυτό πυροδοτεί τον καταβολισμό της τελικά σχηματιζόμενης από το ATP αδενοσίνης, σε υποξανθίνη. Η συσσωρευόμενη υποξανθίνη αποτελεί υπόστρωμα για περαιτέρω καταβολισμό από την οξειδάση της ξανθίνης χαρακτηριστικό της λειτουργίας της οποίας ,είναι η παραγωγή ριζών  $O_2^-$  .

Στην μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Λάρισας, μετρήθηκαν όπως θα δούμε τα επίπεδα ROS στο αίμα ώστε να γίνει και κλινικά εφικτή η συσχέτιση του ΣΑΥ με το οξειδωτικό stress και να αξιολογηθούν οι παθολογικές επιπτώσεις σε ένα ευρύτερο φάσμα .Επίσης ,έτσι καθίσταται εφικτή η αξιολόγηση εναλλακτικών θεραπειών όπως η χορήγηση διατροφικών αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων (βιταμίνες A ,C ) .

Ακολουθεί κλινική περιγραφή του Συνδρόμου Άπνοιας κατά τον Ύπνο :

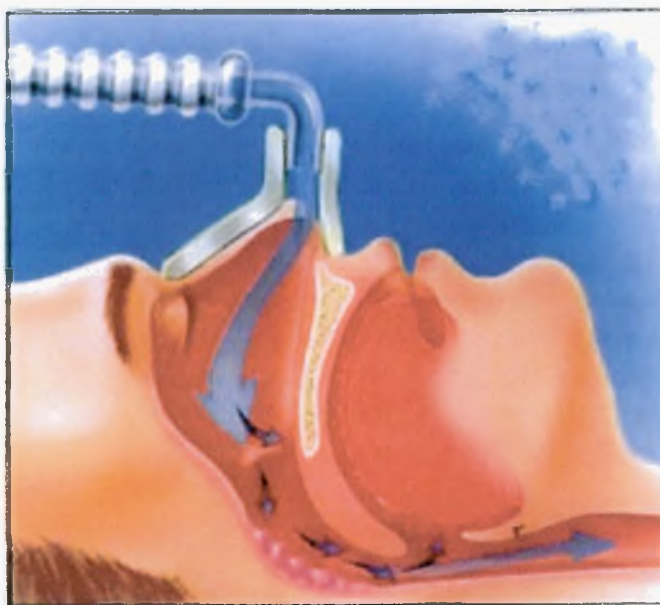


## ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΠΝΟΙΩΝ ΣΤΟΝ ΥΠΝΟ

Η Αποφρακτική Άπνοια του ύπνου είναι μια συχνή πάθηση που χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενα επεισόδια απόφραξης του φάρυγγα κατά τη διάρκεια του ύπνου. Τα τελευταία δεδομένα σχετικά με τις νευροψυχιατρικές και καρδιαγγειακές επιπτώσεις της πάθησης, της προσδίδουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Η λειτουργία των μυών του φάρυγγα όπως και τα μαλακά μόρια της περιοχής έχουν εξέχοντα ρόλο στη διατήρηση ανοικτού του φαρυγγικού αυλού. Δυσλειτουργία των μυών της περιοχής ευνοεί την τάση σύγκλισης του φαρυγγικού αυλού κατά την έλευση του ύπνου. Οι μικροαφυπνίσεις (arousals) λειτουργούν προστατευτικά σ' αυτή τη διαδικασία προκαλώντας όμως τη σειρά τους ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και διαταραχή της αρχιτεκτονικής του ύπνου. Οι αιμοδυναμικές αλλαγές που επιφέρει η ενεργοποίηση του συμπαθητικού συνδέονται άμεσα με την ανάπτυξη συστηματικής υπέρτασης και συμβάλλουν στη δημιουργία καρδιακών εμφράκτων, καρδιακής ανεπάρκειας και εγκεφαλικών ισχαιμικών επεισοδίων. Η διαταραχή της αρχιτεκτονικής του ύπνου έχει ως αποτέλεσμα την ημερήσια υπνηλία, με απώτερη συνέπεια τα τροχαία ατυχήματα, αλλά και νευροψυχιατρικές διαταραχές με φυσικό επακόλουθο τη χαμηλή ποιότητα ζωής. Θεραπεία εκλογής για το σύνδρομο αποφρακτικής άπνοιας είναι η χρήση κατά τον ύπνο συσκευής συνεχούς θετικής πίεσης στους αεραγωγούς με ρινική μάσκα (n-CPAP)<sup>1</sup>.

### 1. Ορισμός του συνδρόμου

Ως άπνοια χαρακτηρίζεται η διακοπή της ροής του αέρα για τουλάχιστον 10 s. Σύμφωνα με τα τελευταία ισχύοντα κριτήρια της Αμερικανικής Εταιρείας Ύπνου



**With CPAP**, a mask over your nose gently blows air into your throat to keep your air passage open.

Εικόνα 37B .Εφαρμογή μάσκας CPAP σε ασθενή με ΣΑΥ .

(Chicago consensus conference 1999), ως υπόπνοια ορίζεται η μείωση της ροής του αέρα  $>50\%$ , ή η μείωση της ροής του αέρα  $<50\%$  που συνοδεύεται όμως από αποκορεσμό της αιμοσφαιρίνης  $>3\%$  ή από ηλεκτροεγκεφαλογραφική εμφάνιση arousal. Οι άπνοιες και οι υπόπνοιες χαρακτηρίζονται ως αποφρακτικές ή κεντρικές ανάλογα με την παρουσία ή όχι αναπνευστικής προσπάθειας<sup>2</sup>.

Η σοβαρότητα της αποφρακτικής άπνοιας εκτιμάται με τον δείκτη απνοιών – υποπνοιών (apnoea – hypopnoea index AHI). Ο κλασικός ορισμός του Συνδρόμου Αποφρακτικής Άπνοιας του Ύπνου προϋποθέτει τη συνύπαρξη αυξημένου δείκτη απνοιών – υποπνοιών AHI με εκσεσημασμένη ημερήσια υπνηλία. Ωστόσο λόγω των σοβαρών καρδιαγγειακών επιπτώσεων του αυξημένου AHI ακόμη και χωρίς ημερήσια υπνηλία τελευταία επικράτησε, ο όρος Σύνδρομο Αποφρακτικής Άπνοιας του Ύπνου, να χαρακτηρίζεται όταν  $AHI > 5$  ανά ώρα ύπνου και συνυπάρχει κλινική συμπτωματολογία που αφορά καρδιαγγειακές ή / και νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις. Αναφορικά με τη διαβάθμιση της σοβαρότητας του συνδρόμου, ως ήπιο χαρακτηρίζεται το ΣΑΑΥ όταν  $5 < AHI < 15$ , μέτριου βαθμού όταν  $15 < AHI < 30$  και σοβαρού βαθμού όταν  $AHI > 30$ . Σημαντικός για την εκτίμηση της σοβαρότητας του συνδρόμου είναι και ο δείκτης μικροαφυπνίσεων ανά ώρα ύπνου (arousal index – AI). Τα arousals είναι επεισόδια διάρκειας 3-15s που χαρακτηρίζονται από αιφνίδια μεταβολή της συχνότητας στο ΗΕΓ που μοιάζει με τη συχνότητα εγρήγορσης<sup>3</sup>.

Το Σύνδρομο αυξημένης αντίστασης των ανωτέρων αεραγωγών (Upper Airway resistance syndrome – UARS) αποτελεί πιθανόν πρόωμη εκδήλωση του συνδρόμου Αποφρακτικής Άπνοιας<sup>5</sup> αν και κάποιοι μελετητές το θεωρούν ξεχωριστή κλινική οντότητα. Χαρακτηρίζεται από έντονο ροχαλητό, ημερήσια υπνηλία, έντονες αναπνευστικές προσπάθειες με εμφάνιση arousals και φυσιολογικό δείκτη απνοιών – υποπνοιών ( $AHI < 5$ ). Το πρόβλημα είναι πως για την ακριβή εκτίμηση των αναπνευστικών προσπαθειών είναι απαραίτητη η μέτρηση της οισοφάγειας πίεσης (με μπαλόνι), γεγονός που είναι δύσκολο στην κλινική πράξη. Αποτέλεσμα είναι το Σύνδρομο αυξημένης αντίστασης των ανωτέρων αεραγωγών να παραμένει αδιάγνωστο σε μεγάλη ομάδα πληθυσμού και να μη γνωρίζουμε την ακριβή επίπτωσή του επιδημιολογικά<sup>4</sup>.

## 2. Επιδημιολογία

Η Αποφρακτική Άπνοια στον ύπνο, παρ' ότι είναι γνωστή κλινική οντότητα για περισσότερο από 30 χρόνια, παραμένει μη αναγνωρίσιμη από μεγάλη ομάδα του ιατρικού κόσμου. Τελευταίες επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι μόνο ένα μικρό μέρος ακόμη και του σοβαρού βαθμού ΣΑΑΥ είναι διεγνωσμένο<sup>5</sup>.

Σύμφωνα με πρόσφατες μεγάλες, επιδημιολογικές μελέτες εκτιμάται ότι το ΣΑΑΥ αφορά το 45-6% του ενήλικου πληθυσμού του δυτικού κόσμου. Ο δείκτης απνοιών – υποπνοιών  $AHI > 5$  ανά ώρα ύπνου παρατηρείται στο 20% του πληθυσμού, ροχαλητό εμφανίζει το 35% και ημερήσια υπνηλία το 18%. Ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου είναι 2-3 φορές μεγαλύτερος στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες και αυξάνεται προοδευτικά με την ηλικία<sup>7</sup>. Αναφορικά με την εξέλιξη της νόσου, η επιδείνωση του ΣΑΑΥ σχετίζεται με την παχυσαρκία, την ηλικία και το ροχαλητό.

## 3. Προδιαθεσικοί παράγοντες

Ο σημαντικότερος προδιαθεσικός παράγοντας για την ανάπτυξη του ΣΑΑΥ είναι η παχυσαρκία. Χαρακτηριστικό είναι πως το 70% των ατόμων με ΣΑΑΥ είναι παχύσαρκα<sup>5</sup>. Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί τελευταία στο ρόλο της κεντρικής παχυσαρκίας που φαίνεται πως εμφανίζει ισχυρότερη συσχέτιση με το ΣΑΑΥ συγκριτικά με τον δείκτη βάρους – μάζας σώματος (BMI) και την περίμετρο λαιμού

που είχαν μελετηθεί εκτενώς την προηγούμενη δεκαετία<sup>9</sup>. Η μείωση του βάρους δίνει θεαματικά αποτελέσματα στη βελτίωση του ΣΑΑΥ. Μείωση του βάρους κατά 9% δίνει βελτίωση κατά 47% του ΑΗΙ (από 55 σε 29). Σύμφωνα με ανάλυση από τη Wisconsin Sleep Cohort Study, σε άτομα με ΑΗΙ<15 αύξηση του βάρους κατά 10%, βπλασιάζει την πιθανότητα ανάπτυξης σοβαρού βαθμού ΣΑΑΥ. Επιπλέον για κάθε 1% αύξησης του βάρους σώματος αναμένεται αύξηση κατά 3% στο ΑΗΙ<sup>10</sup>. Άλλοι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη του συνδρόμου είναι το αλκοόλ, το κάπνισμα και σε μικρότερο βαθμό η ρινική συμφόρηση<sup>5</sup>. Χαρακτηριστική είναι η αυξημένη επίπτωση του ΣΑΑΥ στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ειδικότερα γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση έχουν 4-πλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης ΣΑΑΥ<sup>11</sup>.

#### 4. Κλινική εικόνα

Τα συνηθέστερα συμπτώματα για τα οποία προσέρχονται οι ασθενείς στο Εργαστήριο μελέτης Ύπνου είναι το ροχαλητό ή ημερήσια υπνηλία και η αίσθηση της διακοπής της αναπνοής κατά τον ύπνο. Συχνά επίσης αναφέρουν νυχτουρία, αιφνίδιες αφυπνίσεις και γενικότερα ανήσυχο ύπνο καθώς και πονοκέφαλο ή αίσθημα κόπωσης κατά την ημέρα, ακόμη και διαταραχές της libido<sup>12</sup>.

**4.1. Ροχαλητό:** Είναι πολύ σύνθηδες στον γενικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα αφορά το 35- 45% των ανδρών και το 15-28% των γυναικών. Είναι συχνός παράγοντας δυσαρμονίας μεταξύ των ζευγαριών, διάφορων ψυχολογικών επιπτώσεων ακόμη και διαζυγίων. Κατά τη λήψη του ιστορικού απαραίτητη είναι η παρουσία της ή του συντρόφου του ασθενή που θα μας δώσει χρήσιμες πληροφορίες για το ροχαλητό, για μικροαφυπνίσεις αλλά και για τυχόν διακοπές της αναπνοής κατά τον ύπνο. Χαρακτηριστικά αν δεν αναφέρεται ροχαλητό είναι σχεδόν απίθανη η ύπαρξη του συνδρόμου. Ωστόσο εκτιμάται πως 6% των ασθενών με ΣΑΑΥ δεν αναφέρει ροχαλητό γεγονός που αποδίδεται σε διάφορα άλλα προβλήματα όπως βαρικοία, μη ύπαρξη συντρόφου και στη συνύπαρξη κεντρικών απνοιών. Στα 2/3 από αυτούς με αντικειμενικές μετρήσεις διαπιστώθηκε η ύπαρξη ροχαλητού<sup>12</sup>. Η βαρύτητα της υπνηλίας σαν σύμπτωμα ορίζεται, σύμφωνα με τη Διεθνή Ταξινόμηση των Διαταραχών του Ύπνου ως:

- ήπια όταν εμφανίζεται στην ηρεμία ή σπάνια δραστηριότητες που απαιτούν μικρό βαθμό προσοχής, όπως τηλεθέαση
- μέτρια όταν εμφανίζεται συχνά σε δραστηριότητες που απαιτούν μικρό βαθμό προσοχής, όπως σε αίθουσα αναμονής
- βαριά όταν εμφανίζεται κατά τη διάρκεια δραστηριοτήτων που απαιτούν αυξημένη προσοχή όπως οδήγηση, συνομιλία<sup>2</sup>.

Η υπνηλία, και ιδιαίτερα η βαριά, προκαλεί εκσεσημασμένη διαταραχή τόσο της κοινωνικής όσο και της επαγγελματικής δραστηριότητας και τροποποιεί σταθερά προς το χειρότερο την προσωπικότητα του ατόμου. Η πιο τραγική συνέπεια όμως της υπνηλίας είναι τα τροχαία ατυχήματα τα οποία είναι ιδιαίτερα αυξημένα σε ασθενείς με ΣΑΑΥ<sup>5</sup>.

Σημαντική είναι η ενημέρωση του κοινού σχετικά με το ΣΑΑΥ, αλλά και η εκπαίδευση των κλινικών γιατρών διαφόρων ειδικοτήτων για την αναγνώριση των χαρακτηριστικών συμπτωμάτων του συνδρόμου έτσι ώστε να παραπέμπεται ο ασθενής για έλεγχο σε Εργαστήριο μελέτης Ύπνου. Ενδιαφέρον είναι πως η μεγάλη πλειονότητα αυτών των ασθενών απασχολεί, για μεγάλο χρονικό διάστημα πριν, γιατρούς άλλων ειδικοτήτων όπως καρδιολόγους για υπέρταση, ψυχιάτρους για κατάθλιψη, νευρολόγους για πονοκεφάλους, υπνηλία κ.α<sup>13</sup>.



Συμπερασματικά η χαρακτηριστική τριάδα, ροχαλητό – παχυσαρκία – ημερήσια υπνηλία, δεν πρέπει να περνά απαρατήρητη από κανένα κλινικό γιατρό, ακόμη και πρωτοβάθμιας περίθαλψης. Επειδή όμως το 30% των ασθενών με ΣΑΑΥ δεν είναι παχύσαρκοι, στα πλαίσια του ιστορικού που λαμβάνει ο κλινικός γιατρός δεν πρέπει να παραλείπονται ερωτήσεις σχετικά με το ροχαλητό και την ποιότητα του ύπνου<sup>12</sup>. Τέλος άμεση ένδειξη για μελέτη ύπνου έχουν ασθενείς με δυσρύθμιση αρτηριακή υπέρταση, ιδίως διαστολική, με ανεξήγητη πνευμονική καρδιά και πολυκυτταραιμία.

## 5. Διάγνωση

Η διάγνωση του Συνδρόμου Αποφρακτικής Άπνοιας στον Ύπνο βασίζεται στην αντικειμενική ανάδειξη διαταραχών της αναπνοής στον ύπνο με την πολυκαταγραφική μελέτη ύπνου και την σύγχρονη παρουσία χαρακτηριστικών κλινικών ευρημάτων όπως αυτά που αναφέρθηκαν. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η ύπαρξη ροχαλητού και ημερήσιας υπνηλίας.

**5.1. Κλινική εκτίμηση:** Μόνη η κλινική εκτίμηση χωρίς την πολυπαραμετρική μελέτη ύπνου, δεν είναι αρκετή να θέσει τη διάγνωση του συνδρόμου. Η ύπαρξη του συνδρασμού, έντονου ροχαλητού και διακοπών της αναπνοής στον ύπνο, εμφανίζει 78% ευαισθησία και 67% ειδικότητα ως προς την ανάδειξη του συνδρόμου. Έχουν κατά καιρούς προταθεί διάφορα κλινικά μοντέλα για την διάγνωση του ΣΑΑΥ<sup>12,5</sup>. Κάποιοι συγγραφείς υποστηρίζουν πως μπορούν να μειώσουν κατά 40% τη διενέργεια πολυκαταγραφικών μελετών στα εργαστήρια ύπνου. Ωστόσο ακόμη και τα πιο εμπεριστατωμένα από αυτά εμφανίζουν 76-96% ευαισθησία αλλά μόνο 13-54% ειδικότητα<sup>14</sup>. Επομένως τέτοιου είδους κλινικά μοντέλα, το απλούστερο αυτών είναι η χαρακτηριστική τριάδα ροχαλητό, παχυσαρκία, ημερήσια υπνηλία, που αναφέρθηκε, χρησιμεύουν στους κλινικούς γιατρούς για την επιλογή των ασθενών που θα παραπέμψουν σε Εργαστήρια Ύπνου.

**5.2. Πολυπαραμετρική καταγραφή του ύπνου (full polysomnography (PSG):**

Παραδοσιακά θεωρείται η «gold standard» μέθοδος για τη διάγνωση του ΣΑΑΥ. Απαιτείται η παραμονή του ασθενή στο Νοσοκομείο για ένα βράδυ, παρουσία ειδικού τεχνικού, πολύ ακριβός εξοπλισμός και μεγάλη κατανάλωση χρόνου, τόσο από τον ασθενή όσο και από το γιατρό ή τεχνικό που θα αναλύσει τη μελέτη (2-3 ώρες από έμπειρο). Το πρόβλημα των διαφορετικών διαγνωστικών κριτηρίων έχει εξαλειφθεί τα τελευταία χρόνια μετά την αποδοχή των διαγνωστικών κριτηρίων που τέθηκαν από την Παγκόσμια Εταιρεία Διαταραχών της Αναπνοής στον Ύπνο και είναι αυτά που αναφέρθηκαν αρχικά στους ορισμούς άπνοιας – υπόπνοιας<sup>15</sup>. Ωστόσο η αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων είναι καλή για το σοβαρό και μέτριο ΣΑΑΥ, ενώ για το ήπιο συχνά χρειάζεται και δεύτερη μελέτη ύπνου προκειμένου να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα<sup>16</sup>.

*Η πολυπαραμετρική μελέτη ύπνου περιλαμβάνει:*

- Ηλεκτροεγκεφαλογράφημα, ηλεκτρομυογράφημα, ηλεκτροοφθαλμογράφημα για τη σταδιοποίηση του ύπνου και την εκτίμηση του ύπνου μικροαφυπνίσεων (arousal index).
- ΗΚΓ με 2 προκάρδιες απαγωγές για την εκτίμηση της καρδιακής λειτουργίας.
- Οξυμετρία για τον έλεγχο των αποκορεσμών αιμοσφαιρίνης.
- Μικρόφωνο για τον έλεγχο του ροχαλητού.
- Ειδική απαγωγή για τη θέση σώματος.
- Απαγωγές για τις κινήσεις των ποδιών με σκοπό τυχόν ανάδειξη του συνδρόμου ανήσυχων κάτω άκρων.
- Ειδικοί αισθητήρες, θερμίστορες (thermistors) για την καταγραφή της ροής αέρα στη μύτη και στο στόμα. Συγκεκριμένα οι θερμίστορες ανιχνεύουν τις μεταβολές της

θερμοκρασίας μεταξύ εισπνοής (ψυχρός αέρας) και εκπνοής (θερμός αέρας) και κατά συνέπεια τη ροή αέρα στη μύτη και στο στόμα. Η μέτρηση αυτή είναι ποιοτική, δεν μετράει δηλαδή τον όγκο αλλά μόνο αν υπάρχει κίνηση αέρα. Η μόνη ποσοτική μέθοδος είναι ο πνευμοταχογράφος αλλά όπως και ο καπνογράφος χρησιμοποιούνται μόνο για ερευνητικούς σκοπούς γιατί έχουν δυσκολίες στη χρήση τους.

- Ειδικές ελαστικές ζώνες που δένονται στον θώρακα και στην κοιλιά για την εκτίμηση της αναπνευστικής προσπάθειας. Αν υπάρχει κίνηση στο θώρακα ή στην κοιλιά οι άπνοιες ταξινομούνται ως αποφρακτικές ενώ επί απουσίας κίνησης θεωρούνται κεντρικές. Η μόνη ποσοτική μέθοδος όμως είναι το οισοφάγειο μπαλόνι το οποίο μετρά με ακρίβεια την υπεζωκοτική πίεση και συνεπώς την αναπνευστική προσπάθεια<sup>17</sup>.

### 5.3. Απλούστερες διαγνωστικές τεχνικές:

Επειδή το κόστος της ολοκληρωμένης πολυσωματοκαταγραφικής μελέτης (full PSG) είναι ιδιαίτερα υψηλό έχουν προταθεί και άλλες εναλλακτικές μέθοδοι όπως:

- Split night studies: στην περίπτωση που με full PSG τις 2 πρώτες ώρες ο ασθενής κάνει πάρα πολλές άπνοιες AHI:>40 και είναι τυπικός του συνδρόμου, μπορεί την ίδια νύχτα ν' ακολουθήσει και η δεύτερη θεραπευτική μελέτη με συσκευή n-CPAP για τιτλοποίηση της πίεσης στη συσκευή<sup>2</sup>.

- Μελέτες ύπνου με μηχανήματα που λαμβάνουν μόνο τις καρδιοαναπνευστικές παραμέτρους. Μια τέτοιου είδους μελέτη μπορεί να γίνει και στο σπίτι του ασθενή με δεδομένα πλεονεκτήματα το μειωμένο κόστος και τη συντομία στην ανάλυση<sup>18</sup>. Όμως δεν έχουμε σαφή στοιχεία για τις ώρες και την ποιότητα του ύπνου του ασθενή. Καρδιοαναπνευστικές διαγνωστικές μελέτες εφ' όσον έχει βρεθεί πως η ευαισθησία και η ειδικότητα τους είναι 82-94% και 82-100% αντίστοιχα, μπορούν να εφαρμοσθούν σε τυπικούς ασθενείς με υψηλή κλινική υποψία για ΣΑΑΥ, εντός του Νοσοκομείου και όχι στο σπίτι. Ανεξάρτητα όμως από την ευαισθησία και ειδικότερα που δείχνουν κάποιες σειρές για τέτοιου είδους συσκευές, το αρνητικό του αποτελέσματος δεν μπορεί ν' αποκλείσει τη διάγνωση του συνδρόμου<sup>19</sup>.

- Οξυμετρία κατά τη διάρκεια του ύπνου. Γίνεται καταγραφή του κορεσμού της αιμοσφαιρίνης κατά τη διάρκεια του ύπνου και μετρώνται τα επεισόδια που ο κορεσμός μειώνεται περισσότερο από 3 ή 4% της αρχικής του τιμής<sup>20</sup>. Σύμφωνα όμως με την Αμερικανική Εταιρεία Ύπνου, η χρήση της νυχτερινής οξυμετρίας περιορίζεται για την αρχική εκτίμηση ενός πιθανού ασθενή όταν δεν υπάρχει δυνατότητα να γίνει πλήρης πολυκαταγραφική μελέτη ύπνου, και σε καμία περίπτωση δεν μπορεί να την αντικαταστήσει ακόμη και στους ασθενείς με ισχυρή κλινική υποψία<sup>2,19</sup>.

### 6. Παθοφυσιολογία

Είναι γεγονός ότι μέχρι σήμερα δεν έχει αναγνωρισθεί ένας μοναδικός παθοφυσιολογικός μηχανισμός δημιουργίας αποφρακτικών άπνοιών. Φαίνεται πως τα αίτια του προβλήματος είναι πολυπαραγοντικά, ενδεχομένως με διαφορετικό κυρίαρχο παράγοντα σε κάθε ασθενή ή ομάδα ασθενών. Ανεξάρτητα όμως του υπεύθυνου αιτίου το κύριο πρόβλημα στους ασθενείς με αποφρακτικές άπνοιες είναι η απόφραξη του φαρυγγικού αυλού η οποία χαρακτηριστικά συμβαίνει με την έναρξη του ύπνου. Το μοντέλο της «ισορροπίας των δυνάμεων» μας βοηθάει να κατανοήσουμε την δυναμική της περιοχής.

«*Ισορροπία δυνάμεων*»: Για τη διατήρηση της διαβατότητας του φαρυγγικού αυλού απαραίτητη προϋπόθεση είναι η ισορροπία των δυνάμεων που επιδρούν σ' αυτόν. Οι δυνάμεις που τείνουν να συγκλείνουν τον αεραγωγό (δυνάμεις σύγκλεισης) είναι:



1. η εξωαυλική θετική πίεση, με φορά δηλαδή από έξω προς τον αυλό και οφείλεται κυρίως σε ανατομικά αίτια όπως εναπόθεση λίπους, οπισθογναθία κ.α.

2. η ενδοαυλική αρνητική πίεση στην εισπνοή.

Οι δυνάμεις που τείνουν να διευρύνουν τον αεραγωγό ( δυνάμεις διαστολής) προέρχονται από:

1. την σύσπαση των μυών που διατείνουν τον αεραγωγό με χαρακτηριστικό εκπρόσωπο τον γενειογλωσσικό.

Φανερό είναι πως στους απνοικούς ασθενείς η παραπάνω ισορροπία χάνεται με υπερνίκηση των δυνάμεων σύγκλεισης κατά τη διάρκεια του ύπνου <sup>1,21</sup>. Ας εξετάσουμε όμως κάθε παράμετρο χωριστά.

6.1. Ανατομικά αίτια: Πολλές μελέτες με βάση απεικονιστικές μεθόδους (CT ή MRI) έχουν δείξει μειωμένο διάμετρο του φαρυγγικού αυλού στους απνοικούς ασθενείς σε σχέση με υγιείς παρόμοιας ηλικίας και βάρους σώματος, τόσο στην εγρήγορση όσο και υπό συνθήκες αναισθησίας<sup>22</sup>. Τα ανατομικά αίτια που προκαλούν στένωση στον αεραγωγό ανά περιοχή είναι:

Στο ρινοφάρυγγα: σκολίωση ρινικού διαφράγματος, χρόνια ρινίτιδα, τοπικές μάζες, οίδημα και υπερτροφία της σταφυλής ή της υπερώας.

Στο στοματοφάρυγγα: διόγκωση και φλεγμονή αμυγδαλών, αδενοειδών εκβλαστήσεων, σταφυλής ή υπερώας καθώς και μακρογλωσσία.

Στον υποφάρυγγα: μακρογλωσσία, οπισθογναθία και μικρογναθία καθώς και προς τα άνω και πίσω μετατόπιση του υοειδούς οστού και των πέριξ αυτού ιστών.

Ακόμη υπάρχουν και συστηματικές παθήσεις που δημιουργούν τοπικά προβλήματα: η παχυσαρκία με εναπόθεση λίπους τοπικά, η μεγαλακρία, τα λεμφώματα με ανάπτυξη λεμφικής μάζας στο φάρυγγα, ο έκτοπος θυρεοειδής κ.α <sup>1,21</sup>.

6.2. Λειτουργία των μυών του φάρυγγα: Η αναπνευστική λειτουργία επιτυγχάνεται με τη βοήθεια 24 ζευγών μυών, οι οποίοι λειτουργούν σε συνεργασία ή ομαδικά. Όπως και άλλοι αναπνευστικοί μύες, διεγείρονται από ερεθίσματα προερχόμενα από το προμηκικό αναπνευστικό κέντρο ώστε να διατηρούν ρυθμική δραστηριότητα<sup>1</sup>. Οι περισσότεροι συσπώνται έντονα κατά τη φάση της εισπνοής για να διατείνουν και ισχυροποιήσουν τους ανώτερους αεραγωγούς. Σκοπός τους είναι να εξισορροπήσουν την τάση για σύμπτωση των τοιχωμάτων του φάρυγγα που δημιουργείται κατά την εισπνοή, λόγω αρνητικής ενδοαυλικής πίεσης. Οι μύες που διεγείρονται και λειτουργούν κατά την εισπνοή ονομάζονται εισπνευστικοί φασικοί μύες και εκπροσωπούνται κυρίως από τον γενειογλωσσικό και τον γενειοϋοειδή. Η δραστηριότητα των μυών των ανωτέρων ερεθισμάτων όπως η υποξία, η υπερκαπνία, η ενδοθωρακική πίεση, η μηχανική κατάσταση του θωρακικού τοιχώματος καθώς επίσης και σε μηχανικά ερεθίσματα που προέρχονται από τους ίδιους τους αεραγωγούς. Είναι πιθανό δε, οι εισπνευστικοί φασικοί μύες όπως ο γενειογλωσσικός, να ενεργοποιούνται πριν τη σύσπαση του διαφράγματος και τη δημιουργία εισπνευστικής ροής, προετοιμάζοντας μ' αυτό τον τρόπο τα τοιχώματα του φάρυγγα για την επερχόμενη αρνητική ενδοαυλική πίεση. Τέλος υπάρχουν και άλλοι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τη δραστηριότητα των μυών της περιοχής του φάρυγγα όπως η νάρκωση, και το επίπεδο συνείδησης, συνηγορώντας έτσι την ύπαρξη μιας «απάντησης» εξαρτώμενης από την εγρήγορση και η οποία μειώνεται σημαντικά κατά τον ύπνο<sup>21</sup>. Συγκεκριμένα κατά τη διάρκεια του ύπνου παρατηρείται μείωση των διαφόρων αντανάκλαστικών όπως αυτό της αρνητικής πίεσης των ανώτερων αεραγωγών. Το εν λόγω αντανάκλαστικό είναι πολύ σημαντικό στη διατήρηση της διαβατότητας του φαρυγγικού αυλού. Επιπλέον οι τονικοί μύες χάνουν σημαντικό μέρος της δραστηριότητά τους κατά τον ύπνο, διατηρώντας μόνο το 20-

30% στο στάδιο 4 του ύπνου. Αποτέλεσμα όλων των παραπάνω είναι η αύξηση της αντίστασης των ανωτέρων αεραγωγών κατά 2-3 φορές σε σχέση με την εγρήγορση ακόμη και στους υγιείς<sup>23</sup>.

Στους απνοικούς κατά την εγρήγορση: Οι φαρυγγικοί μύες με προεξέχοντα τον γενειογλωσσικό, βρίσκονται σε συνεχή δραστηριότητα προκειμένου να διατηρήσουν ανοικτό το ήδη στενό στόμιο του αυλού. Μελέτες που έγιναν με ηλεκτρομυογραφικό έλεγχο του γενειογλωσσικού σε απνοικούς και υγιείς έδειξαν πως στους απνοικούς ο εν λόγω μυς λειτουργεί κατά 40% περίπου της μέγιστης αποδόσεώς του ενώ στους υγιείς στο 12%. Η αυξημένη τονική δραστηριότητα των φαρυγγικών μυών στους απνοικούς η οποία αποτελεί προφανώς μια νευρομυική αντιροπιστική λειτουργία για τη διατήρηση ανοικτού ενός στενού στομίου. Θα μπορούσε κάποιος θεωρητικά να υποθέσει ότι αν δεν υπήρχε η συνεχής μυϊκή δραστηριότητα τα άτομα αυτά θα εκδήλωναν άπνοιες ακόμα και κατά την εγρήγορση<sup>24</sup>.

Στους απνοικούς κατά τον ύπνο: Κατά τη διάρκεια του ύπνου χάνεται το αντανάκλαστικό αρνητικής πίεσης όπως και η τονική δραστηριότητα των φαρυγγικών μυών. Η φασική δραστηριότητα των μυών δεν επαρκεί για να διατηρήσει ανοικτό τον φαρυγγικό αυλό ειδικά αν προϋπάρχει ανατομική στένωση, με αποτέλεσμα την πλήρη ή μερική απόφραξή του κατά την εισπνοή και την εμφάνιση αντίστοιχα απνοιών και υποπνοιών<sup>21</sup>.

### 6.3. Άλλοι παράγοντες που εμπλέκονται στην παθογένεια της Άπνοιας;

Στατικοί Πνευμονικοί όγκοι: Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει πως η αύξηση των πνευμονικών όγκων ασκεί προστατευτική επίδραση στη σύγκλειση των ανωτέρων αεραγωγών. Συγκεκριμένα η διάμετρος του φαρυγγικού αυλού αυξάνεται σε μεγάλους πνευμονικούς όγκους. Όπως είναι γνωστό οι πνευμονικοί όγκοι είναι μειωμένοι στους παχύσαρκους, λόγω περιοριστικού συνδρόμου, αλλά και στους φυσιολογικούς κατά τη ύπτια θέση, δηλαδή κατά τον ύπνο, η FRC (Λειτουργική υπολειπόμενη χωρητικότητα) μειώνεται<sup>5,21</sup>.

- Ασταθής αναπνευστική ώση: Με το μηχανισμό αυτό ερμηνεύθηκαν αρχικά οι κεντρικές άπνοιες, φαίνεται όμως πως συμμετέχει και στη δημιουργία των αποφρακτικών. Οι μικροαφυπνήσεις (arousals) που δημιουργούνται κατά τον τερματισμό της άπνοιας προκαλούν υπέρπνοια με υποκαπνία και μείωση της κεντρικής αναπνευστικής ώσης με αποτέλεσμα την εμφάνιση συνήθως μικτή άπνοιας έως ότου η PCO<sub>2</sub> να αυξηθεί, να ενταθεί η αναπνευστική προσπάθεια και να ξαναεμφανισθούν arousals<sup>25</sup>.

Το οίδημα του φάρυγγα από το καθημερινό ροχαλητό, προκαλεί επιπλέον στένωση του φαρυγγικού αυλού και αυξάνει την τάση σύγκλεισης των τοιχωμάτων του προδιαθέτοντας σε περισσότερες άπνοιες.

Ο τοπικός τραυματισμός λόγω του ροχαλητού επιφέρει ανάπτυξη ινώδους συνδετικού ιστού στα μαλακά μόρια του φάρυγγα (remodeling) και βλάβη των τελικών νευρικών απολήξεων της περιοχής. Αποτέλεσμα αυτού είναι η δυσκολία στην ανάδειξη των μηχανικών ερεθισμάτων της περιοχής τα οποία ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για την έκλυση arousal και τον τερματισμό της άπνοιας<sup>26</sup>.

Παρατηρούμε τελικά πως το πρόβλημα της αποφρακτικής άπνοιας είναι πολυπαραγοντικό και πως όλοι οι προαναφερθέντες μηχανισμοί συμβάλλουν σε διαφορετικό βαθμό ο καθένας για κάθε ασθενή.

## 7. Επιπτώσεις.

Οι επιπτώσεις του ΣΑΑΥ μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο μεγάλες ομάδες: Α) Αυτές που απορρέουν από τη διαταραχή της αρχιτεκτονικής του ύπνου, συνεπεία των



συνεχών μικροαφυπνίσεων ( arousals ) , και είναι η ημερήσια υπνηλία με τραγική κατάληξη τα τροχαία ατυχήματα, επιπτώσεις στη συμπεριφορά του ατόμου, διάφορα ψυχοκοινωνικά προβλήματα και χαμηλή ποιότητα ζωής.

Β) Οι επιπτώσεις που απορρέουν από τις αιμοδυναμικές διαταραχές που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια των επεισοδίων, δηλαδή οι καρδιαγγειακές επιπτώσεις, που είναι η υπέρταση, το έμφραγμα μυοκαρδίου, αρρυθμίες, καρδιακή ανεπάρκεια, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια.

7.1. Υπνηλία: Η σχέση της Αποφρακτικής Άπνοιας με την υπνηλία είναι ανεξάρτητη από την ηλικία το φύλο και το BMI. Σύμφωνα με τη Sleep Heart Health Study παρατηρείται μια σημαντική ανοδική τάση στην κλίμακα υπνηλίας ESS (Epworth Sleepiness Scale) καθώς αυξάνει ο δείκτης AHI> Εκσεσημασμένη υπνηλία ESS score>11 βρέθηκε στο 20% αυτών με AHI<5 και στο 35% αυτών με AHI>30 <sup>27</sup>. Μελέτη από το Wisconsin Sleep Cohort έδειξε ότι άνδρες που έχουν AHI>15 και ροχαλίζουν καθημερινά έχουν 7-πλάσια πιθανότητα ενός τροχαίου συμβάντος σε διάρκεια 5 ετών σε σύγκριση με άτομα που δεν ροχαλίζουν και έχουν AHI<5 <sup>28</sup>.

Ενδιαφέρουσα είναι και μία πρόσφατη μελέτη από τη Σουηδία όπου βρέθηκε πως άτομα με ΣΑΑΥ έχουν 2-3- πλάσια πιθανότητα να υποστούν επαγγελματικό ατύχημα σε διάρκεια 10 ετών <sup>29</sup>.

Παρότι η συσχέτιση της άπνοιας με τα τροχαία ατυχήματα είναι τεκμηριωμένη πλέον, δεν αποδίδεται μόνο στην υπνηλία αλλά και στη μειωμένη ικανότητα αντίληψης, συγκέντρωσης της προσοχής και αντίδρασης στα ερεθίσματα που εμφανίζουν οι ασθενείς με ΣΑΑΥ. Μελέτες που βασίζονται στις ψυχοκινητικές λειτουργίες των ασθενών με ΣΑΑΥ δίνουν τέτοιου είδους ενδείξεις <sup>30</sup>. Ο δείκτης απνοιών – υποπνοιών AHI>5 συσχετίζεται με δυσκολία συγκέντρωσης ή αυξημένης προσοχής αλλά όχι με διαταραχές μνήμης. Επιπλέον η Sleep Heart Health Study έδειξε σημαντική συσχέτιση του ΣΑΑΥ με την ποιότητα ζωής και τη θνητότητα <sup>27</sup>.

7.2. Καρδιαγγειακές επιπτώσεις: Οι αιμοδυναμικές διαταραχές που συμβαίνουν κατά τον ύπνο στους απνοικούς περιλαμβάνουν την αγγειοσύσπαση λόγω αύξησης του τόνου του συμπαθητικού, την διάταση των δεξιών καρδιακών κοιλοτήτων, την διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας και τις αιφνίδιες μεταβολές του όγκου παλμού, με επακόλουθο συστηματική και πνευμονική υπέρταση. Για τα παραπάνω ευθύνονται οι άπνοιες, η υποξυγοναιμία, η υπερκαπνία, η αρνητική ενδοθωρακική πίεση και τα arousals <sup>31</sup>.

Επιπλέον οι ασθενείς με ΣΑΑΥ, ακόμη και χωρίς καρδιαγγειακό νόσημα, έχουν επηρεασμένη τη λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου. Η υποξία, τα επεισόδια υποξίας – επαναοξυγόνωσης και οι αιφνίδιες (με μεγάλες διακυμάνσεις) μεταβολές της πίεσης που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια των απνοικών επεισοδίων ευθύνονται για την απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών αλλά και για απ' ευθείας βλάβη του ενδοθηλίου. Όπως είναι γνωστό η δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με υπέρταση, υπερλιπιδαιμία, διαβήτη ή κάπνισμα και συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών επεισοδίων. Παρ' ότι οι παραπάνω παθήσεις συνυπάρχουν συχνά με την υπνική άπνοια το ΣΑΑΥ μπορεί να θεωρηθεί ανεξάρτητος παράγοντας δυσλειτουργίας του αγγειακού ενδοθηλίου και πρόκλησης αθηρογένεσης <sup>32</sup>.

Από χρόνια είναι γνωστή η σχέση του ΣΑΑΥ με την ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης λόγω υποξαιμίας, αλλά και συστηματικής υπέρτασης λόγω αύξησης του τόνου του συμπαθητικού κατά τη διάρκεια των απνοικών επεισοδίων. Μετά από μεγάλες πλέον επιδημιολογικές μελέτες, έχει τεκμηριωθεί πως το ΣΑΑΥ είναι σημαντικός παράγοντας ανάπτυξης συστηματικής αρτηριακής υπέρτασης και πως η

σχέση του, τόσο με την υπέρταση όσο και με τα υπόλοιπα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι ανεξάρτητη της ηλικίας και της παχυσαρκίας<sup>33</sup>. Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στη σημασία του υποαπνοϊκού δείκτη (AHI). Οι μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες των «κέντρων αναφοράς για τον Ύπνο» όπως η Sleep Heart Health Study σε 6424 άτομα δείχνουν γραμμική συσχέτιση του δείκτη AHI με την επίπτωση των καρδιαγγειακών παθήσεων. Συγκεκριμένα όταν ο AHI>11, η πιθανότητα εμφάνισης στα επόμενα χρόνια στεφανιαίας νόσου, αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου και συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας αυξάνεται κατά 42%<sup>34</sup>. Άλλωστε η σύνδεση του ΣΑΑΥ με αυξημένη θνητότητα αποδίδεται κυρίως στην ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων. Ακόμη η συσχέτιση είναι πιο έντονη στα άτομα ηλικίας <60 ετών. Χαρακτηριστικό είναι πως, ακόμη και το μη απνοϊκό ροχαλητό αυξάνει κατά 33% την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων σε διάστημα 8 ετών παρακολούθησης<sup>35</sup>. Σύμφωνα με τις τελευταίες οδηγίες της Αμερικανικής Καρδιολογικής Εταιρείας (Consensus guidelines for the management of hypertension), το ΣΑΑΥ όχι μόνο περιλαμβάνεται στους παράγοντες που πρέπει να αποκλεισθούν κατά την διερεύνηση της υπέρτασης αλλά είναι η πρώτη αιτία αυτού που καλείται «ιδιοπαθής υπέρταση»<sup>36</sup>. Επίσης, προκειμένου να τεθεί βηματοδότης για αντιμετώπιση βραδυαρρυθμίας, πρέπει πρώτα να αποκλεισθεί το ΣΑΑΥ<sup>32</sup>.

#### 8. Θεραπεία

Θεραπεία εκλογής για την Αποφρακτική Άπνοια παραμένει η συσκευή n-CPAP που είναι αναπνευστήρας συνεχούς θετικής πίεσης με ρινική μάσκα, δεδομένου ότι έχει τεκμηριωθεί η αποτελεσματικότητά της τόσο για την εξαφάνιση των απνοϊκών επεισοδίων όσο και για την αντιμετώπιση των ημερήσιων συμπτωμάτων και των καρδιαγγειακών επιπλοκών. Η πρώτη περιγραφή της έγινε το 1981 από τον Collin Sullivan και ο τρόπος δράσης της βασίζεται στη σταθεροποίηση της διαβατότητας του φαρυγγικού αυλού μέσω της συνεχούς θετικής πίεσης<sup>1</sup>.

Για την έναρξη της θεραπείας γίνεται εκ νέου πολυκαταγραφική μελέτη ύπνου με σύγχρονη εφαρμογή h-CPAP με σκοπό τον καθορισμό της ιδανικής πίεσης στην οποία θα τεθεί η συσκευή (P effective). Η ιδανική πίεση (Peff) είναι η ελάχιστη πίεση που μειώνει τον δείκτη ανοιγών – υποπνοιών έτσι ώστε AHI<5 ή σπάνια σε δύσκολες περιπτώσεις AHI<10, τους αποκορεσμούς αιμοσφαιρίνης, το ροχαλητό, βελτιώνει την αρχιτεκτονική του ύπνου και είναι ανεκτή από τον ασθενή<sup>2</sup>.

Η βελτίωση της αρχιτεκτονικής του ύπνου επιτυγχάνεται με την ελαχιστοποίηση των αφυπνίσεων, την μείωση του σταδίου 1, και την αύξηση της διάρκειας του σταδίου REM καθώς και του ύπνου βραδέων κυμάτων (SWS), δηλαδή των σταδίων 3 και 4 του ύπνου<sup>37</sup>. Αποτέλεσμα αυτών είναι η θεαματική βελτίωση της ημερήσιας υπνηλίας κατά την επανεκτίμηση των ασθενών 2 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας. Οι Montserrat et al. σε τυχαιοποιημένη μελέτη, όπου χρησιμοποιήθηκαν ως placebo συσκευές n-CPAP σε υποθεραπευτικά επίπεδα, έδειξαν πως σε ασθενείς με μετρίου και σοβαρού βαθμού ΣΑΑΥ η χρήση n-CPAP μειώνει σημαντικά την ημερήσια υπνηλία (ESSA: 16-6), βελτιώνει κατά 2,5 φορές την εγρήγορση και κατά 8 φορές την ημερήσια παραγωγικότητα και ζωτικότητα<sup>38</sup>. Ωστόσο, στο ήπιο ΣΑΑΥ (5<AHI<15), σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, τα αποτελέσματα της θεραπείας δεν είναι σαφή. Εξάλλου η συμμόρφωση στη θεραπεία, ειδικά σε άτομα χωρίς ιδιαίτερα ημερήσια συμπτώματα είναι πολύ μικρή (50-65%)<sup>39</sup>.

Είναι δεδομένο ότι η συμμόρφωση στη θεραπεία αποτελεί σημαντικό πρόβλημα στην αντιμετώπιση του ΣΑΑΥ με χρήση συσκευής n-CPAP. Στην περίπτωση όμως του μετρίου και σοβαρού ΣΑΑΥ (AHI>5), οι ασθενείς επιζητούν θεραπευτική λύση και η συμμόρφωση σύμφωνα με διάφορες σειρές είναι 65-80%. Αναφορικά με την



πρόληψη αλλά και αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών επιπλοκών στο ΣΑΑΥ, η συμβολή της θεραπευτικής χρήσης της συσκευής n-CPAP έχει πλέον τεκμηριωθεί. Πολλές μελέτες έχουν δείξει πως η θεραπεία με n-CPAP μειώνει την πίεση στην πνευμονική αρτηρία, ασκεί προστατευτικό ρόλο στην ανάπτυξη συστηματικής υπέρτασης στο ΣΑΑΥ και ακόμη, βελτιώνει την ήδη εγκατεστημένη ανθιστάμενη στη θεραπεία υπέρταση<sup>40,5</sup>. Η θεραπεία με CPAP στην καρδιακή ανεπάρκεια που συνοδεύεται είτε από αποφρακτικές είτε από κεντρικές άπνοιες έχει θεαματικά αποτελέσματα βελτιώνοντας τόσο το κλάσμα εξώθησης (LVEF) όσο και την γενικότερη λειτουργικότητα του μυοκαρδίου (cardiac functional status). Πτώσεις του διαστήματος ST κατά τη διάρκεια του ύπνου παρατηρούνται συχνά στους απνοικούς ασθενείς και ιδιαίτερα στις περιπτώσεις σοβαρού βαθμού ΣΑΑΥ που σχετίζονται με σημαντικές πτώσεις του κορεσμού της αιμοσφαιρίνης. Η θεραπεία με n-CPAP μειώνει σημαντικά την συνολική χρονική διάρκεια πτώσεως των διαστημάτων ST κατά τον ύπνο στους ασθενείς με ΣΑΑΥ. Πρόσφατες επίσης μελέτες δείχνουν και τη συμβολή της συσκευής CPAP στην αντιμετώπιση των ασθενών τις πρώτες κρίσιμες ημέρες μετά από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο μειώνοντας την πιθανότητα επανεμφάνισης νέου ισχαιμικού επεισοδίου. Επιπλέον έχειδειχθεί με πολλές μελέτες πως η θεραπεία του συνδρόμου με συσκευή n-CPAP εξαφανίζει τα περισσότερα είδη αρρυθμιών σ' αυτούς τους ασθενείς. Προκειμένου επομένως να τεθεί βηματοδότης για αντιμετώπιση βραδυαρρυθμίας, πρέπει πρώτα να αποκλεισθεί το ΣΑΑΥ<sup>31,21</sup>.

Σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Ύπνου στο ήπιο ΣΑΑΥ χορηγείται n-CPAP όταν συνυπάρχει ημερήσια υπνηλία ή καρδιαγγειακή νόσος ενώ όταν ο AHI>30 το ΣΑΑΥ πρέπει να αντιμετωπισθεί με n-CPAP ανεξάρτητα από ημερήσια συμπτώματα ή συνοδές παθήσεις<sup>41</sup>. Νεότερες συσκευές όπως η auto - n - CPAP, βοηθούν στην καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών εφ' όσον η χορηγούμενη θετική πίεση έχει δυνατότητα διακυμάνσεως ανάλογα με τις υπάρχουσες ανάγκες<sup>42</sup>. Οι συσκευές BiPAP (συνεχούς θετικής πίεσης δύο επιπέδων, εισπνοής και εκπνοής), χρησιμοποιούνται σε ασθενείς που χρειάζονται πολύ υψηλές θετικές πιέσεις ή έχουν συγχρόνως αναπνευστική ανεπάρκεια από άλλη πάθηση όπως ΧΑΠ, κύφωση, νευρομυική νόσο κ.α.<sup>43</sup>. Νεότερες συσκευές τέτοιου είδους χρησιμοποιούνται γενικότερα στον μη επεμβατικό αερισμό για την αντιμετώπιση αναπνευστικής ανεπάρκειας και έχουν τη δυνατότητα προεπιλογής ορισμένου αριθμού αναπνοών το λεπτό, καθώς και του χρόνου εισπνοής.

Οι ενδείξεις των ΩΡΛ χειρουργικών επεμβάσεων των γνωστών φαρυγγυπεριωπ्लाστικών (UVPP) έχουν περιορισθεί αρκετά εφόσον ανάλογες μελέτες δείχνουν πολύ πτωχά αποτελέσματα<sup>1</sup>. Συγκεκριμένα μόνο το 32% των ασθενών παρουσιάζουν βελτίωση κατά 50% του AHI. Η σταφυλουπεριωπ्लाστική με Laser (LAUP) και καυτηριασμό (CAPSO) καθώς και η Somnoplasty στην υπερώα ή στη βάση της γλώσσας, έχουν ως τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό ουλής. Δεν έχουν τη δυνατότητα άρσης του προβλήματος και χρειάζονται συχνά επαναληπτικές επεμβάσεις. Οι πιο ενθαρρυντικές μελέτες περιγράφουν μέτρια ή μικρή μείωση του AHI στο 30-50% των ασθενών<sup>44</sup>. Κύρια ένδειξη ΩΡΛ επέμβασης παραμένει το εντοπισμένο ανατομικό πρόβλημα όπως π.χ. η αφαίρεση υπερτροφικών αμυγδαλών. Οι εξελιγμένες μορφές της UVPP που αναφέρθηκαν, περιορίζονται στην αντιμετώπιση κυρίως του ροχαλητού σε νέους χωρίς ΣΑΑΥ με AHI<15. Νεότερες ελπιδοφόρες τεχνικές που ακόμη βρίσκονται υπό μελέτη, βασίζονται στην ηλεκτρική διέγερση των μυών της γλώσσας<sup>45</sup>.

Η ορθοδοντική προσέγγιση με ενδοστοματικά προθέματα κερδίζει έδαφος τα τελευταία χρόνια αλλά η επιτυχής έκβαση αφορά επιλεγμένες περιπτώσεις ασθενών που σχετίζονται με οπισθογναθία και ανωμαλίες της κροταφογναθικής άρθρωσης.



Μελέτη που έγινε σε 28 τυχαία επιλεγμένους ασθενείς με ΣΑΑΥ, έδειξε πλήρη επιτυχία στο 38% των ασθενών, δηλαδή  $AHI < 5$ , και μείωση του δείκτη κατά 50% της αρχικής του τιμής, με παραμονή όμως του  $AHI > 5$ , στο 25% αυτών. Η επιτυχής έκβαση ήταν εξάρτηση των κεφαλομετρικών παραμέτρων, της ηλικίας και της σοβαρότητας του συνδρόμου<sup>46</sup>. Ένδειξη επομένως για ορθοδοντική αντιμετώπιση με ενδοστοματικά προθέματα έχουν κυρίως νέοι ασθενείς με ήπιο ή μέτριο ΣΑΑΥ με οπισθογναθία και γενικότερα ανωμαλίες σύγκλεισης άνω και κάτω γνάθου που επιφέρουν διαταραχές στις κεφαλομετρικές παραμέτρους<sup>43</sup>.

Από τα φάρμακα που έχουν χρησιμοποιηθεί, η Μοδαφιλίνη φαίνεται πως αντιμετωπίζει ικανοποιητικά την ημερήσια υπνηλία (άλλωστε η κύρια ένδειξή της είναι η ναρκοληψία) αλλά δεν έχει καμία δράση στην άρση των απνοιών και των καρδιαγγειακών προβλημάτων που αυτές επιφέρουν. Βελτιώνει δηλαδή το σύμπτωμα χωρίς να αντιμετωπίζει το αίτιο. Για το λόγο αυτό η κύρια ένδειξή της είναι η αντιμετώπιση της υπολειπόμενης ημερήσιας υπνηλίας στους ασθενείς που χρησιμοποιούν συσκευή CPAP<sup>47</sup>.

Ανεξάρτητα από την προτεινόμενη θεραπεία σε κάθε ασθενή δεν πρέπει να παραλείπονται συστάσεις για μείωση σωματικού βάρους, ειδικά αν πρόκειται για παχύσαρκο άτομο, άσκηση, διακοπή καπνίσματος και αποφυγή αλκοόλ.

Συμπερασματικά: Ένας στους 20 ενήλικες πάσχουν από μη διαγνωσμένο ΣΑΑΥ. Ένας στους 5 ενήλικες έχουν  $AHI > 5$ . Η επίπτωση του ΣΑΑΥ είναι πολύ μεγάλη και αναμένεται να αυξηθεί περισσότερο τα επόμενα χρόνια αφού ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας, η παχυσαρκία, είναι η «επιδημία» της εποχής στις δυτικές χώρες. Στην πλήρη του έκφραση, με την εκσεσημασμένη ημερήσια υπνηλία ευθύνεται για πλήθος προβλημάτων υγείας που δεν αγγίζουν μόνο τον ασθενή αλλά και το κοινωνικό σύνολο λόγω των τροχαίων ατυχημάτων. Ακόμη όμως και χωρίς υπνηλία ο αυξημένος δείκτης απνοιών – υποπνοιών ( $AHI$ ) αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Η συμβολή των Γενικών αλλά και κάθε ειδικότητας γιατρών, στην αναγνώριση των πιθανών ασθενών είναι σημαντική.

## ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS

### ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΥ

Τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών στο αίμα των ασθενών με Σύνδρομο Άπνοιας κατά τον Ύπνο, εκτιμήθηκαν με το FREE RADICAL ANALYTICAL SYSTEM· μία μεθοδολογία που αναπτύχθηκε πρόσφατα από την Ιταλική εταιρία βιοϊατρικών ειδών IRAM και που περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Ιταλούς επιστήμονες Alberti, Bolognini, Macciantelli και Caratelli στο άρθρο τους : "The radical cation of N,N-Diethyl-para-phenyldiamine: a possible indicator of oxidative stress in biological samples".



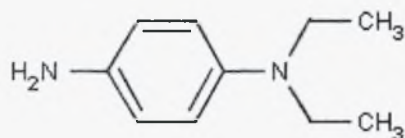
Εικόνα 38 .Το μηχάνημα FRAS 3 .

Στο σύστημα αυτό ,με τη βοήθεια του μηχανήματος FRAS 3 που είναι ένα φασματοφωτόμετρο με ενσωματωμένη φυγόκεντρο ,μετριοούνται φωτομετρικά σε δείγμα αίματος παράγωγα μεταβολιτών ελευθέρων ριζών οξυγόνου ή dROMs (derivatives of ROS Metabolites) όπως χαρακτηριστικά αποκαλούνται σε μονάδες Carr προς τιμήν του επιστήμονα Carratelli .Ας δούμε όμως τις αρχές στις οποίες στηρίζεται το τεστ :οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου δεν μετριοούνται άμεσα αλλά γίνεται μία εκτίμηση της συγκέντρωσης στο αίμα των πιο σταθερών μεταβολιτών που προκύπτουν από την υπεροξειδωση διαφόρων βιομορίων και που είναι τα υδροϋπεροξειδία λιπιδίων ,σακχάρων ,αμινοξέων ,πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων , ROOH .Τα υδροϋπεροξειδία επιλέγονται ως δείκτης του μεγέθους της οξειδωτικής βλάβης αφού οι ίδιες οι ελεύθερες ρίζες είναι πολύ ασταθείς και με πολύ μικρό χρόνο ημιζωής για να καταστεί εφικτή η ανίχνευσή τους ,ενώ προϊόντα της υπεροξειδωσης όπως το MDA αντιδρούν εύκολα με τις πρωτεΐνες ή το DNA ώστε ταχύτατα η ελεύθερη μορφή τους να "εξαντλείται" .Ας αναφερθεί ότι τα ROOH στο αίμα προέρχονται από τα ίδια τα κύτταρα που δέχθηκαν την "επίθεση" από τις ROS και υδατοδιαλυτά καθώς είναι ,διέφυγαν και εισήλθαν στην κυκλοφορία .Η δε συγκέντρωσή τους είναι ανάλογη των ROS που προκάλεσαν την δημιουργία τους . Η διαδικασία του τεστ ,έχει ως εξής :

Σε τριχοειδές ,λαμβάνονται 10  $\mu\text{L}$  αίματος από το δάκτυλο του εξεταζομένου και κατόπιν αυτό τοποθετείται σε erpendorf που περιέχει 1mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικού οξέος ( $\text{pH}=4,8$ ) και αναδεύεται ελαφρά .Κατ' αυτόν τον τρόπο ,σε όξινο περιβάλλον ,ιόντα σιδήρου στην δισθενή τους κατάσταση απελευθερώνονται από διάφορες πρωτεΐνες του πλάσματος που τα συμπλοκοποιούν χηλικά και αντιδρούν με τα υδροϋπεροξειδία μετατρέποντάς τα ξανά σε ελεύθερες ρίζες σύμφωνα με την αντίδραση :  $\text{R}-\text{OOH} + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{R}-\text{O}^{\bullet} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$  (1)

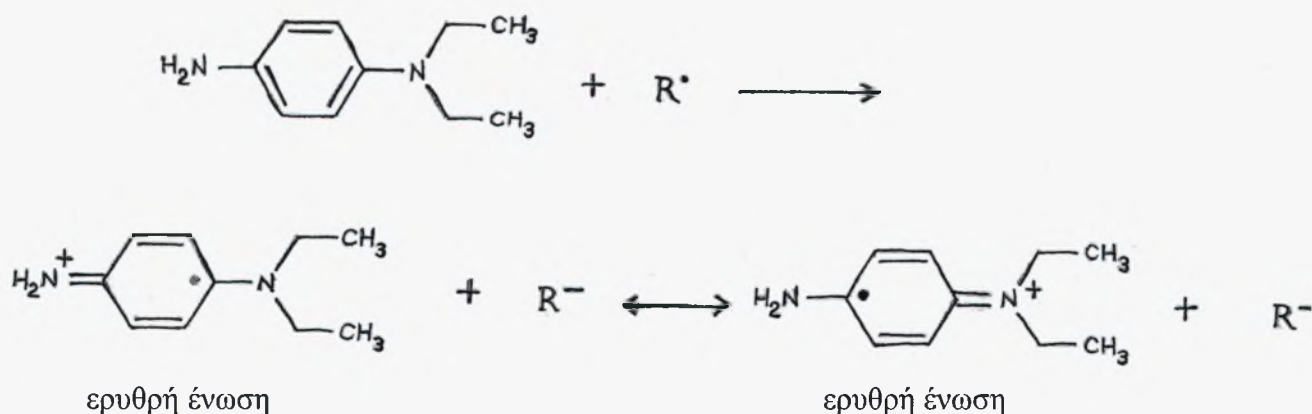
Ο τρισθενής σίδηρος ανάγεται πάλι σε δισθενή αφού είναι σε θέση να αντιδράσει με ένα άλλο υδροϋπεροξειδίο κατά την αντίδραση :

$\text{R}-\text{OOH} + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{R}-\text{OO}^{\bullet} + \text{H}^+ + \text{Fe}^{2+}$  (2), μπορώντας έτσι να μετέχει σε μία νέα αντίδραση (1) κοκ. Η δε ρίζα αλκοξειδίου  $\text{R}-\text{O}^{\bullet}$  είναι ικανή να διαδώσει τον σχηματισμό των ROS (propagation) αποσπώντας από κάποιο υδροϋπεροξειδίο ένα άτομο υδρογόνου  $\text{H}^{\bullet}$  και μετατρέποντάς το σε ρίζα υπεροξειδίου  $\text{R}-\text{OO}^{\bullet}$  ,ενώ η ίδια μετατρέπεται σε αδρανή αλκοόλη  $\text{R}-\text{OH}$  .Ακολουθώντας , μεταφέρουμε το δ/μα σε κυψελίδα και προσθέτουμε 10  $\mu\text{L}$  διαλύματος χρωμογόνου, ένωσης ,της N,N-διαίθυλ-παρα-φαινυλδιαμίνης (εικόνα 39) .Η ένωση αυτή είναι αρχικά άχρωμη αλλά αντιδρώντας με τις υπάρχουσες ρίζες  $\text{R}-\text{OO}^{\bullet}$  και  $\text{R}-\text{O}^{\bullet}$  που συνο-



Εικόνα 39 .Η δομή της N,N-διαίθυλ-παρα-φαινυλδιαμίνης .

λικά στην αντίδραση της εικόνας 40 συμβολίζονται με  $\text{R}^{\bullet}$ , αποκτά ένα ερυθρό χρώμα η ένταση του οποίου είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης των προαναφερθέντων ROS στο αίμα .



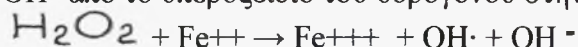
Εικόνα 40 .Η αντίδραση παραγωγής χρώματος .

Κατά την παραπάνω αντίδραση παραγωγής χρώματος ,οι ελεύθερες ρίζες στο αίμα μετατρέπονται σε ανιόντα τα οποία συγκρατούνται με ιοντικές ελκτικές δυνάμεις



λόγω του αντίθετου φορτίου ,με τις διάφορες δομές συντονισμού των σχηματιζόμενων κατιόντων της χρωμογόνου ένωσης .Το δ/μα στην κυψελίδα φυγοκεντρείται και ακολουθεί φασματοφωτομέτρησή του στα 505nm .Η ένταση του χρώματος που έχει παραχθεί είναι ανάλογη των ROS στο δείγμα αίματος, η συγκέντρωση των οποίων εκφράζεται σε Carr Units όπου :

1 Carr U= 0,08 mg/100mL  $H_2O_2$  θεωρώντας ότι η δράση του  $Fe^{++}$  είναι ισοδύναμη με τον ρόλο του σιδήρου ως καταλύτη για τον σχηματισμό ρίζας  $OH\cdot$  και  $OH^-$  από το υπεροξείδιο του υδρογόνου στην αντίδραση Fenton :



Κλινικές μελέτες ετίμησης του οξειδωτικού stress σε ασθενείς με διάφορες παθήσεις βασισμένες στο FRAS ,πραγματοποιήθηκαν σε αρκετά νοσοκομεία διεθνώς αλλά κυρίως στην Ιταλία όπου περιγράφηκε για πρώτη φορά το εν λόγω σύστημα από τους Carratelli και Alberti και αναπτύχθηκε από την εταιρεία IRAM. Χαρακτηριστικά, στην Μονάδα Αγγειολογίας-Αγγειοπλαστικής και Κλινικών Δοκιμών της Κλινικής Pierangeli, της Pescara στην Ιταλία (Angiology-Vascular Surgery & Clinical Trials Unit of Pierangeli Clinic of Pescara ,Italy) ,διαπιστώθηκε κατόπιν μετρήσεων ότι ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα και αθηροσκλήρωση είχαν υψηλά επίπεδα ROS στο αίμα (~300 Carr U κατά μέσο όρο τη στιγμή που το ανώτατο όριο είναι 250 Carr U) .Η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών μειώθηκε κατά 10% ύστερα από χορήγηση του αντιοξειδωτικού διατροφικού συμπληρώματος Stenovit (εικόνα 41) που περιέχει βιταμίνη A και E , της Ιταλικής εταιρείας GUNA.



Εικόνα 41 .Φαρμακευτικό αντιοξειδωτικό σκεύασμα .

Στο Ινστιτούτο Προληπτικής Παιδιατρικής και Νεογνολογίας στην Σιένα της Ιταλίας (Institute of Preventive Pediatrics and Neonatology of Siena ,Italy) ,διαπιστώθηκε ύστερα από μετρήσεις με τη βοήθεια του FRAS ,το έντονο οξειδωτικό stress σε νεογνά με υποξαιμία λόγω αναπνευστικής δυσλειτουργίας και από περαιτέρω βιοχημικές αναλύσεις ,βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα υπεροξείδωσης πρωτεϊνικών προϊόντων ή AOPPs (Advanced Oxidation Protein Products) .

Στην κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Πνευμονολογική Πτέρυγα του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λάρισας μετρήθηκαν με το σύστημα FRAS τα επίπεδα dROMs στο αίμα ασθενών με Σύνδρομο Άπνοιας κατά τον Ύπνο (ΣΑΥ) καθώς και η συγκέντρωση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (C-Reactive Protein ,CRP) ως δείκτη της μεταγραφικής απόκρισης στο οξειδωτικό stress σε επίπεδο πρωτεϊνών οξείας φάσης (Acute Phase Proteins) .Παρακάτω ,παρατίθεται ο πίνακας των ατόμων που εξετάστηκαν και τα αντίστοιχα αποτελέσματα :



## Αιμοληψία ασθενών με ΣΑΥ

A/A	ΟΜΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΕΤΩΝ	d-ROMs (Carr U)	CRP (mg/dL)
1.	Τερζούδης Σπυρίδων	66	564	0,2
2.	Ζιώγας Μιχαήλ	34	235	-
3.	Βαίτης Φώτης	24	250	0,7
4.	Κωτούζας Μιχαήλ	50	269	0,2
5.	Δεληγιάννης Ηλίας	54	265	0,6
6.	Κυρίτση Ειρήνη	18	246	-
7.	Ζέρβας Χρήστος	30	355	0,6
8.	Αθανασίου Βασιλική	41	225	0,6
9.	Πούλιος Εμμανουήλ	45	319	0,1
10.	Κουκόσιας Αθανάσιος	56	309	0,4
11.	Κούριας Αθανάσιος	53	226	0,3
12.	Τζαβέλλας Ιωάννης	38	327	0,6
13.	Καλαθάς Παναγιώτης	39	218	0,3
14.	Γαλλιώτας Γεώργιος	58	256	0,1
15.	Μπολολού Όλγα	22	369	0
16.	Δομενικιώτη Ευθυμία	48	270	0,1
17.	Παλιαρούτης Δημήτριος	61	213	0,3
18.	Πατέλης Κων/νος	55	256	0,2
19.	Μαυρομάτης Δανιήλ	37	257	0,1
20.	Γελαντζόπουλος Χρήστος	27	353	0,1

21.	Μπαντακός Αντώνιος	33	227	0,3
22.	Ρούτσος Περικλής	38	322	3,3
23.	Καστανάρας Γεώργιος	48	209	3,3
24.	Μαλάκος Μιχαήλ	32	265	1,1
25.	Βησσαροπούλου Κων/να	42	568	0,5
26.	Μπατζιώλα Μαρία	77	389	2,6
27.	Ιωάννου Απόστολος	86	239	0,2
28.	Τριανταφυλλή Φρειδερίκη	46	453	3,8
29.	Τριανταφυλλής Γεώργιος	55	373	0,3
30.	Δούκας Νικόλαος	56	253	4,6
31.	Πελεκούδας Νικόλαος	38	262	0,1
32.	Λεμονή Χρυσανγή	49	182	1,2
33.	Μαυρίδου Σταυρούλα	49	240	0,5
34.	Αρμυράς Ιωάννης	45	443	0,1
35.	Μπαντέλα Παρασκευή	27	220	0
36.	Αναστασίου Γεώργιος	58	188	0,2
37.	Λύρρας Ιωάννης	40	184	0,9
38.	Αργυρόπουλος Παναγιώτης	39	280/211	0
39.	Καλαμπόκας Σταμάτης	67	-	0,1
40.	Βαρούτσικος Γεώργιος	41	374	1,7

41.	Χασιώτης Νικόλαος	56	311	0,5
42.	Κεφαλάς Χρήστος	59	260/247	-
43.	Αρβανίτης Θωμάς	37	278	-
44.	Δούκας Στυλιανός	51	120/336	-
45.	Βασιλακάκος Παντελής	52	183	-
46.	Κουτσιαλής Κων/νος	51	262	-
47.	Σωτηρίου Ιωάννης	33	267	-
48.	Κανέλος Σταύρος	52	-	-
49.	Κατσιαφλιάκας Δημήτριος	59	251/165	-
50.	Μπατσίλας Δημήτριος	40	243/340	-
51.	Ρήγα Ευαγγελία	75	248/181	-
52.	Αργυράκης Ιωάννης	68	201/364	-
53.	Ντανίκας Νικόλαος	44	182/295	-
54.	Τσιότσιος Νικόλαος	56	224/214	-
55.	Τσικώνη Παρασκευή	69	371	-
56.	Καρακαντές Αθανάσιος	74	256/270	-
57.	Τσιαμπαλής Ηλίας	38	222/322	-
58.	Αλευράς Παναγιώτης	21	209/298	-
59.	Χαρόβα Αικατερίνη	40	305/472	-
60.	Χατζηνίκος Βασίλειος	58	191/264	-
61.	Γκασδρόγκας Νικόλαος	41	290	-
62.	Καναβούρα Σταμούλα	31	211/297	-
63.	Παπαργύρης Ιωάννης	56	171/379	-

64.	Sassin Josef	43	318	-
65.	Γκουλιάκος Ιωάννης	48	214/231	-
66.	Κουτσουνάκης Δημήτριος	43	219/346	-
67.	Πανταζή Αποστολία	58	212/273	-
68.	Πανταζής Γεώργιος	62	241/248	-
69.	Μπαρμπαγεωργόπουλος Γεώργιος	59	205/278	-
70.	Δαμασουλιώτης Δημήτριος	27	249/300	-
71.	Πούλιος Χρήστος	-	147/241	-
72.	Φερεντινός Δημήτριος	-	207	-
73.	Γιαβρούτας Ιωάννης	58	351	-
74.	Μπαχατίρογλου Αναστάσιος	34	294/307	-
75.	Μπουρτζής Νικόλαος	59	180/253	-
76.	Γρουσόπουλος Ευάγγελος	54	186/373	-
77.	Διαμαντής Κων/νος	30	281/329	-
78.	Σωτηρίου Δημήτριος	60	227/247	-
79.	Χριστοδούλου Στέλλα	50	434	-
80.	Χριστοδούλου Περσιτέρα	56	295	-
81.	Μπαρσούκης Ιωάννης	33	358	-



82.	Χατζησταματίου Στυλιανός	67	245/272	-
83.	Καμπά Αικατερίνη	65	349/438	-
84.	Καραδαγλής Αλέξανδρος	32	645	-

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ας αναφερθεί κατ' αρχάς ότι η πρώτη τιμή των d-ROMs αφορά μέτρηση που έγινε το βράδυ πριν από την Μελέτη Ύπνου ενώ η δεύτερη τιμή ,αφορά μέτρηση που πραγματοποιήθηκε κατά τις πρωινές ώρες .Το δε ανώτατο όριο τιμής πέραν του οποίου ο ασθενής θεωρείται πως έχει οξειδωτικό stress είναι 250 Carr U ενώ οι φυσιολογικές τιμές για την CRP στα υγιή άτομα ,κυμαίνονται κάτω των 0,6 mg/dL αλλά σε φλεγμονώδεις νόσους θεωρητικά τα επίπεδα της CRP στο πλάσμα μπορούν να αυξηθούν έως και 1000 φορές .

Από την μέτρηση των επιπέδων των dROMs που έγινε τις πρωινές ώρες σε συνολικά 84 άτομα ,τα 35 από αυτά βρέθηκε να έχουν dROMs =250 έως 350 Carr U (οξειδωτικό stress) ,τα 20 είχαν dROMs >350 Carr U (έντονο οξειδωτικό stress) και 3 άτομα είχαν dROMs >500 Carr U (πολύ έντονο οξειδωτικό stress) κάτι που κάνει επιτακτική την ανάγκη για χορήγηση αντιοξειδωτικών διατροφικών συμπληρωμάτων όπως βιταμίνες Α και C .Εάν το άτομο είναι καπνιστής θα πρέπει να σταματήσει το τσιγάρο γιατί το ρίσκο για προσβολή από καρδιαγγειακά νοσήματα είναι μεγάλο .Το 70% δηλαδή των ατόμων με ΣΑΥ που εξετάστηκαν είχαν σε διαφορετικό βαθμό οξειδωτικό stress ( dROMs >250) και μόνο το 30% είχε dROMs < 250 .Αυτό υποδεικνύει **έντονη συσχέτιση του ΣΑΥ με το οξειδωτικό stress .**

Από τα 30 συνολικά άτομα που εξετάστηκαν και το βράδυ και το πρωί ,5 ασθενείς βρέθηκε να έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση dROMs στο αίμα το βράδυ απ' ότι το πρωί· ενώ 25 ασθενείς είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση dROMs το πρωί· συγκριτικά με τις τιμές των βραδινών μετρήσεων .Αυτό ίσως να σχετίζεται με τον **κιρκάδιο ρυθμό** αλλά δεν είναι ικανό να αποσυνδέσει γενικά τις επιπτώσεις του οξειδωτικού stress στην ομαλή λειτουργία του νευρικού συστήματος και την διαδικασία του ύπνου. Σε 19 από τα 30 άτομα ,αυτή η μεταβολή στην συγκέντρωση των dROMs είχε ως αποτέλεσμα να ξεπερασθεί το όριο της κατωφλικής τιμής των 250 μονάδων ενώ πριν η τιμή ήταν κάτω από το όριο .

Οι πρωινές με τις βραδινές τιμές διέφεραν κατά μέσο όρο 82 μονάδες ,με 7 άτομα να παρουσιάζουν μία διαφορά από 20 μονάδες και κάτω και 8 άτομα να παρουσιάζουν μία πολύ μεγάλη διαφορά από 100 μονάδες και άνω .

Όσον αφορά τώρα τις τιμές της CRP ,σε 40 συνολικά άτομα που εξετάστηκαν τις πρωινές ώρες ταυτόχρονα για οξειδωτικό stress και CRP ,τα **24 από αυτά είχαν οξειδωτικό stress (dROMs > 250 Carr U) με μόλις 6 ασθενείς να έχουν συγχρόνως και αυξημένα επίπεδα CRP πάνω του φυσιολογικού** που είναι 0,6mg/dL και 18 ασθενείς να έχουν μεν οξειδωτικό stress αλλά CRP < 0,6mg/dL. Από τα δε **16 άτομα που δεν είχαν οξειδωτικό stress (dROMs < 250 Carr U) ,τα 4**

είχαν στο αίμα συγκετρώσεις CRP που ξεπερνούσαν το ανώτατο φυσιολογικό όριο ενώ τα 12 είχαν κατώτερες του ορίου τιμές CRP. Άρα στην πρώτη περίπτωση, τα αποτελέσματα δείχνουν πως η ύπαρξη του οξειδωτικού stress δεν συνεπάγεται κατ' ανάγκη και άνοδο των επιπέδων της CRP ενώ αντίθετα στην δεύτερη περίπτωση, οι τιμές των 2 δεικτών φαίνεται να συμβαδίζουν: η πλειοψηφία των ατόμων με οξειδωτικό stress έχουν φυσιολογικά χαμηλά επίπεδα CRP. Αυτό συμβαίνει γιατί το οξειδωτικό stress είναι ένα πολυδιάστατο, πολυπαραγοντικό φαινόμενο που όταν υφίσταται έχει αμέτρητες επιπτώσεις μην επηρεάζοντας άμεσα αλλά και αποκλειστικά την CRP: μπορεί π.χ το οξειδωτικό stress να μην οφείλεται σε φλεγμονή που είναι και ο κύριος λόγος άνοδου των επιπέδων της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης. Τα χαμηλά όμως επίπεδα ROS είναι ικανή ένδειξη για να αποκλείσει την ύπαρξη φλεγμονής.

Γενικότερα τώρα, οι διαφορές που υπάρχουν ξεκάθαρα μεταξύ των ατόμων τόσο σε αυτά καθ' αυτά τα επίπεδα των ROS στο αίμα όσο και στο μέγεθος των αυξομειώσεων στις πρωινές και βραδινές τιμές, οφείλονται φυσικά και στον διαφορετικό βαθμό έκθεσης σε ελεύθερες ρίζες αλλά και στις διαφορές των ατόμων στα ένζυμα που συντελούν στον σχηματισμό των ROS π.χ τα οξειδοαναγωγικά ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας ή στα ένζυμα με αντιοξειδωτική δράση. Πρόκειται στην ουσία για διαφορές των γονιδίων που κωδικοποιούν τα ένζυμα αυτά (SNPs κτλ) που έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τις ιδιότητές τους όπως την συγγένεια για το υπόστρωμα την ανθεκτικότητα σε αναστολείς κ.ά. Άλλωστε οι διαφορές των ενζύμων του P450 κυτοχρώματος μεταξύ των ατόμων που έχουν ως αποτέλεσμα την ιδιοσυγκρασιακή απόκριση στον μεταβολισμό ενός φαρμάκου (G6PD και η ανθελονοσιακή παμακίνη) ή την αποτοξίνωση από μία ξενοβιοτική ουσία (αλκοολική αφυδρογονάση και μεταβολισμός του αλκοόλ), είναι καλά τεκμηριωμένες και αποτελούν αντικείμενο μελέτης του κλάδου της Φαρμακογενωμικής.

## • ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Malhotra A., White DP. Obstructive sleep apnoea. Seminar. Lancet 2002, 360:237-45.
2. American Academy of Sleep Medicine Task Force. Sleep – related disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. Sleep 1999, 22: 667-689.
3. Daniel I Loube, Kingman P Strohl, David P White. Indications for Positive Airway Pressure Treatment of Adult Obstructive Sleep Apnea Patients. A Consensus Statement. CHEST 1999, 115: 863-866.
4. Stradling JR, Davies RJ, Sleep 1: Obstructive sleep apnoea / hypopnoea syndrome: definitions, epidemiology, and natural history. Review series. Thorax 2004, 59: 73-78.
5. Young T, Peppard PE, (Gottlieb DJ. Epidemiology of Obstructive Sleep Apnea. A Population Health Perspective. State of the Art. A J Respir Crit Care Med 2002, 165” 1217-1239.
6. Young T, Shahar E, Nieto FJ et al. Predictors of sleep – disordered breathing in community dwelling adults: the Sleep Heart Study. Arch Intern Med 2002, 162: 893- 900.
7. Ware JC, McBrayer RH, Scott JA. Influence of sex and age on duration and frequency of sleep apnea events. Sleep 2000, 23 : 165-170.
8. Tishler PV, Larkin EK, Schluchter MD et al. Incidence of sleep – disordered breathing in an urban adult population: the relative importance of risk factors in the development of sleep – disordered breathing. JAMA. 2003, 289: 2230-2237.
9. Gami AS, Caples SM, Somers VK. Obesity and obstructive sleep apnea. Endocrinol Metab Clin N Am 2003, 32: 869-894.

10. Peppard PE, Young T, Palta M et al. Longitudinal study of moderate weight change and sleep – disordered breathing. JAMA 2000, 284: 3015- 3021.
11. Dancey DR, Hanly PJ, Soong C et al. Impact of menopause on the prevalence and severity of sleep apnea. Chest 2001, 120: 151-5.
12. Schlosshan D, Elliott MW. Sleep 3: Clinical presentation and diagnosis of the obstructive sleep apnoea/ hypopnoea syndrome. Review series. Thorax 2004, 59: 347-352.
13. Smith R, Ronald J, Delaive K, et al. What are obstructive sleep apnea patients being treated for prior to this diagnosis? Chest 2002, 121: 164- 172.
14. Rowley JA, Aboussouan LS, Badr MS et al. The use of clinical prediction formulas in the evaluation of obstructive sleep apnea. Sleep 2000, 23: 929, 938.
15. Littner M. Polysomnography in the diagnosis of the obstructive sleep apnea – hypopnea syndrome: where do we draw the line? Chest 200, 118: 286-288.
16. Le Bon O, Hoffmann G, Tecco J et al. Mild to moderate sleep respiratory events: one negative night may not be enough. Chest 2000, 118: 353-359.
17. AARC – APT Clinical Practice Guideline: Polysomnography. Respir Care 1995, 40 (12): 1336-1343.
18. Calleja JM, Esnaola S, Rudio Ret al. Comparison of a cardiorespiratory device versus polysomnography for diagnosis of sleep apnea. Eur Respir J 2002, 20: 1505- 1510.
19. Ross SD, Sheinhati IA, Harrison KJ et al. Systematic review and metaanalysis of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea. Sleep 200, 23 : 519-32.
20. Netzer N, Eliassan AH, Netzer C et al. Overnight pulse oximetry for sleep-disordered breathing in adults: a review. Chest 2001, 120 : 626-633.



21. Fogel R B, Malhotra A, DP White. Sleep 2: Pathophysiology of obstructive sleep apnoea / hypopnoea syndrome. Review series. Thorax 2004, 59 : 159-163.
22. Venin E, Tardif C, Buffet X et al. Comparison between anatomy and resistance of upper airway in normal subjects, snorers and OSAS patients. Respir Physion 2002, 129 : 335-343.,
23. Fogel RB, Trinder J, Malhotra A. Within – breath control of genioglossal muscle activation in human: effects of sleep – wake state. J Physion (London) 2003, 550: 899-910.
24. Malhotra A, Fogel R, Edwards J et al. Local mechanisms ddrive genioglossus muscle activation in obstructive sleep apnea. Am J Respir Crit Care Med 200, 161 : 1746-1749.
25. Younes M. Role of arousals in the pathogenesis of obstructive sleep apnea. Am J Respir Crit Care Med 2004, 169: 623-633,
26. Kimoff R, Sforza E, Champagne V et al. Upper airway sensation in snoring and obstructive sleep apnea. Am J Respir Crit Care Med 2001, 160 : 250-255.
27. Gottlieb DJ, Whitney CW, Bonekat WH et al. Relation of sleepiness to respiratory disturbance index: the Sleep Heart Health Study. Am J Respir Crit Care Med 1999 159: 502-507.
28. Gottlieb DJ, Yao Q, Redline S et al. Does snoring predict sleepiness independently of apnea and hypopnea frequency? Am J Respir Cri Care Med 200, 162: 1512-1517.
29. Lindberg E, Carter N, Gislason T et al. Role of snoring and daytime sleepiness in occupational accidents. Am J Respir Crit Care Med 2001, 164: 2031-2035.

30. Adams N, Strauss M, Schluchter M et al. Relation of measures of sleep disordered breathing to neuropsychological functioning. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163: 1626-1631.
31. Leung RS, Douglas B. Sleep apnea and cardiovascular disease. State of the art. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 2147-2165.
32. Shamsuzzaman A, Gersh B, Somers V. Obstructive sleep apnea. Implications for cardiac and vascular disease. *JAMA* 2003, 290: 190-6-1914.
33. Pankow W, Lies A, Lohmann FW. Sleep – disordered breathing and hypertension. *N Engl med* 200, 343:: 966.
34. Shahar E, Whitney CW, Redline S et al. Sleep – disordered breathing and cardiovascular disease: cross – sectional results of the Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163: 19-25.
35. Hu FB, Willet WC, Manson JE et al. Snoring and risk of cardiovascular disease in women. *J Am Coll Cardiol* 2000, 35: 308-313.
36. Chobanian AV, Bakris GL, Blank HR. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003, 289: 2560-2572.
37. McArdle, Douglas NJ. Effect of continuous positive airway pressure on sleep architecture in the sleep apnea / hypopnea syndrome: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 1459-1463.
38. Montserrat JM, Ferrer M, Hernandez L et al. Effectiveness of CPAP treatment in daytime function in sleep apnea syndrome: a randomized controlled study with an optimized placebo. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 608-613.

39. Monasterio C, Vidal S, Dyran J et al. Effectiveness of continuous positive airway pressure in mild sleep apnea – hypopnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164: 939-943.
40. Dimsdale JE, Lored JS, Profant J. Effect of continuous positive airway pressure on blood pressure: a placebo trial. *Hypertension* 2000, 35: 144-147.
41. Loube DI, Strohl KP, White DP. Indications for Positive Airway Pressure Treatment of Abut Obstructive Sleep Apnea Patients. A Consensus Statement. *CHEST* 199, 115: 863-866.
42. Randerath WJ, Schraeder O, Galetke W et al. Autoadjusting CPAP therapy based on impedance efficacy, compliance and acceptance. *Am J Respir Crit Care Med* 20012, 163: 652-657.
43. Tobin MJ. Sleep – Disordered reathing, Control of Breathing, Respiratory Muscles, and Pulmonary Function Testign in AJRCCM 2001. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165: 584-597.
44. Friedman M, Ibrahim H, Lee G et al. Combined uvulopalatopharyngoplasty and radiofrequency tonge base reduction for treatment obstructive sleep apnea/ hypopnea syndrome. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003, 129 (6) : 611- 621.
45. Randerath WJ, Galetke W, Domanski U et al. Tongue – muscle training by intraoral electrical neurostimulation in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep* 2004, 254-259.
46. Mehta A, Qian Petocz P, et al. A randomized, controlled study of a mandibular advancement splint for obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163
47. Pack AI, Black JE, Schwartz JR et al. Modafinil as adjunct therapy for daytime sleepiness in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164:

48. Lubert Stryer ,Βιοχημεία .Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης ,τρίτη έκδοση
49. Alberts ,Bray ,Johnson ,Raff ,Walter ,Roberts ,Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας .Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης .
50. Ι. Γεωργάτσος ,Εισαγωγή στη Βιοχημεία .Εκδόσεις Γιαχούδη-Γιαπούλη ,πέμπτη έκδοση .
51. William Marshall ,Κλινική Βιοχημεία .Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας ,τρίτη έκδοση .
52. Barry Halliway ,John M. C. Gutteridge ,Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford Science Publications ,third edition .
53. Βασίλης Μαρμάρας & Μαρία Λαμπροπούλου –Μαρμάρα ,Βιολογία Κυττάρου *Μοριακή Προσέγγιση* .ΤΥΡΟΡΑΜΑ ,τέταρτη έκδοση .
54. <http://www.iram.it/>
55. <http://diacron.com/htm/droms.htm>



